AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE l'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

par **Feng ZHENG**

Le choc anaphylactique : de la physiopathologie à la thérapeutique

Soutenance le 8 Juillet 2013

Membres du jury :

Rapporteurs: **Professeur Bernard GENY, Nouvel Hôpital Civil / NHC, Strasbourg**

Professeur Sylvie CHOLLET-MARTIN, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris.

Examinateurs : Professeur Jean-Marc MALINOVSKY, CHU de Reims & Université de Reims

Professeur Gérard AUDIBERT, CHU de Nancy & Université de Lorraine

Professeur Dan LONGROIS, Inserm U698 & Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité

Directeur de thèse : Professeur Paul-Michel MERTES, UMR1116 DCAC & Université de Lorraine

Co-directeur de thèse : Professeur Bruno LEVY, CHU de Nancy & Université de Lorraine

---

UMR1116 DCAC. Faculté de Médecine de Nancy.

9 Avenue de la Forêt de Haye 54505 Vandoeuvre - lès - Nancy

Remerciements

Au professeur Paul-Michel Mertes, mon directeur de thèse, pour m'avoir encadré et soutenu tout au long de ces années d'étude, pour m'avoir fait confiance et encouragé. Merci pour la qualité de votre encadrement ainsi que pour vos corrections de ce mémoire. Je tiens à vous exprimer mon admiration pour votre enthousiasme et votre dynamisme sans faille. Soyez assurée de mon plus profond respect et de ma profonde gratitude.

Au professeur Bruno Levy, le directeur de laboratoire et co-encadrant de ce travail de thèse, pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire, pour votre sympathie, votre disponibilité, vos idées et conseils, ainsi que pour votre aide précieuse de tous les jours. Soyez assuré de toute mon estime et de mon profond respect.

Au Professeur Bernard Geny et au professeur Sylvie Chollet-Martin pour avoir accepté de juger ce travail en qualité de rapporteur.

Au Professeur Jean-Marc Malinovsky, au professeur Gérard Audibert et au professeur Dan Longrois, pour avoir accepté de juger ce travail.

Au Docteur Patrick Lacolley, directeur de recherche UMR1116 DCAC, pour m'avoir permis d'accéder à ses installations

Un grande merci à tous mes collègues et amis du Laboratoire Groupe Choc : je tiens à remercier chaleureusement Chantal, Grégoire, Keiko, Julien, Charlène, Marc, Amir, Jérémy. Je n'oublie pas tous les étudiants en année recherche pour leur gentillesse.

Merci à mes amis chinois, plus particulièrement à Yihua Liu, Yingying Wang, Xianglei Wu, pour votre amitié, pour tout ce que nous avons partagé.

À tous les autres que je ne peux citer tant la liste est longue, mais que je n'oublie pas…

Merci à mes parents pour leur soutien et leur amour inestimable. Et merci en particulier à ma femme, pour son amour quotidien, son soutien, et sa grande patience à son mon égard.

Publications

Zheng F, Barthel G, Collange O, Montémont C, Thornton SN, Longrois D, Levy B, Audibert G, Malinovsky JM, Mertes PM. Methylene blue and epinephrine: a synergetic association for anaphylactic shock treatment. Crit Care Med. 2013;41(1):195-204.

Davidson J, **Zheng F**, Tajima K, Barthel G, Alb I, Tabarna A, Thornton SN, Lambert M, Longrois D, Audibert G, Malinovsky JM, Mertes PM. Anaphylactic shock decreases cerebral blood flow more than what would be expected from severe arterial hypotension. Shock. 2012; 38(4):429-35. (premier co-auteur)

Mertes PM, **Zheng F**, Barthel G, Alb I, Tabarna A, Thornton SN, Longrois D, Audibert G, Malinovsky JM. Anaphylactic Shock Decreases Cerebral Blood Flow More Than What Would Be Expected From Severe Arterial Hypotension: Reply. Shock. 2013; 39(5):463-464.

Zheng F, Collange O, Davidson J, Barthel G, Oulehri W, Thornton SN, Longrois D, Levy B, Audibert G , Malinovsky JM, Mertes PM. Epinephrine, as compared to arginine vasopressin, is associated with similar hemodynamic effects but significantly improved brain oxygenation in the early phase of anaphylactic shock (Soumis).

Tajima K, **Zheng F**, Barthel G, Olivier C, Thorton SN, Longrois D, Levy B, Audibert G, Malinovsky JM, Mertes PM. Time to target mean arterial pressure upon resuscitation of anaphylactic shock. A comparison of epinephrine alone or associated with different volume expanders. (premier co-auteur, soumis)

G. Barthel, **F Zheng**, J Davidson, B Demoulin, C Montémont, J Gaburro, P-M Mertes, F Marchal. Biphasic airway-lung tissue response to anaphylactic shock in Brown Norway rats. (soumis).

Congrès

- Feng Zheng, Grégoire Barthel, Chantal Montémont, Gérard Audibert, Jean-Marc Malinovsky, Paul-Michel Mertes. Bleu de méthylène et adrénaline, un traitement synergique du choc anaphylactique chez le rat Brown Norway. SFAR 2011, Paris.

- F, Zheng, G. Barthel, C. Montemont, G. Audibert, J-M Malinovsky, P-M Merte. Bleu de méthylène et adrénaline, un traitement synergique du choc anaphylactique chez le rat Brown Norway. CFA 2011, Paris.
- Feng Zheng, Grégoire Barthel, Montemont Chantal, Gérard Audibert, Jean-marc Malinovsky, Paul Michel Mertes. Methylene blue and epinephrine, a synergistic association for anaphylactic shock treatment in anesthetized brown Norway rats. ESA 2011, Amsterdam.

- F Zheng, G Barthel, B Demoulin, F Marchal, G Audibert, JM Malinovsky, PM Mertes. Comparaison de l'adrénaline et de la vasopressine pour lever le bronchospasme allergique dans un modèle du choc anaphylactique. CFA 2013, Paris

- Feng Zheng, Grégoire Barthel, Bruno Demoulin, François Marchal, Jean-Marc Malinovsky, Paul-Michel Mertes. A comparison of epinephrine and arginine vasopressin on the respiratory system response in a rat model of lethal anaphylactic shock. ESA 2013, accepté.

PREAMBULE

Le choc anaphylactique est l'expression clinique la plus sévère des réactions d'hypersensibilité immédiates. Comme tout état de choc, il se définit comme un tableau d'insuffisance circulatoire aiguë qui altère de façon durable l'oxygénation et le métabolisme des différents tissus et organes. L'organisme s'adapte à cette hypotension et hypoperfusion systémique par une redistribution des débits sanguins régionaux avec par exemple une diminution importante de la perfusion musculaire

Certaines études expérimentales récentes démontrent que la physiopathologie du choc anaphylactique est beaucoup plus complexe qu'initialement supposée et demeure imparfaitement caractérisée. Les conséquences systémiques des altérations hémodynamiques et les effets directs des médiateurs de l'anaphylaxie sur le système respiratoire et la circulation cérébrale restent à déterminer. Dans ce contexte, La première partie de notre travail étudie la physiopathologie du choc anaphylactique et notamment ses conséquences sur différents tissus et organes, notamment le muscle squelettique, le cerveau et le système respiratoire.

La seconde partie s'intéresse aux aspects thérapeutiques examinés à la lumière de nos nouvelles connaissances sur la physiopathologie du choc. L'adrénaline en association avec les solutés de remplissage est le traitement de référence du choc anaphylactique. En cas de défaillance hémodynamique sévère, la réponse à l'adrénaline peut être profondément atténuée et conduire rapidement au décès. Face à l'existence en clinique de chocs anaphylactiques réfractaires à l'adrénaline ou prolongés, différents agents modulant le tonus vasculaire ont été étudiés tels que la vasopressine et le bleu de méthylène. Enfin, il n'existe pas de preuve solide montrant la supériorité d'un soluté de remplissage dans le traitement du choc anaphylactique. Nous avons donc également comparé les effets de trois types de solutés de remplissage administrés en association avec l'adrénaline au cours du choc anaphylactique.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS 4

CONTEXTE 6

I. Définition du choc anaphylactique 7

II. Epidémiologie des réactions d'hypersensibilité immédiates 7

III. Physiopathologie des réactions d'hypersensibilité immédiates 10

III.1. Mécanisme physiopathologiques 10

III.1.1.Réactions d'hypersensibilité immédiates allergiques 10

III.1.2.Réactions d'hypersensibilité immédiates non allergiques 12

III.2. Mécanismes cellulaires et médiateurs impliqués 13

III.2. 1. Caractéristiques cytologiques 13

III.2. 1.1. Mastocyte 13

III.2. 1.2. Basophiles 14

III.2. 1.3. Neutrophiles 14

III.2. 2. Médiateurs impliqués 15

III.2. 2.1. Histamine 15

III.2. 2.2. Tryptase 17

III.2. 2.3. Monoxyde d'azote 17

III.2.2.4. Le Platelet Activating Factor (PAF) 20

III.2.2.5. Les autres médiateurs 21

IV.Symptomatologie clinique 22

IV.1.Manifestations cutanéo-muqueuses 25

IV.2.Signes respiratoires 25

IV.3. Signes cardiovasculaires 26

IV.4. Autres signes 28

IV.5.Evolution 28

V. Diagnostique des réactions d'hypersensibilité immédiates 29

V.1.Bilan immédiat 29

V.1.1.Tryptase 30

V.1.2.Histamine 30

V.1.3.IgE spécifiques 31

V.2. Bilan secondaire 31

V.2.1. Tests cutanés 32

V.2.2. Autres tests 32

V.2.3. Tests de provocation 33

VI.Traitement **34**
VI.1.Traitement actuel **34**
VI.1.1. Mesures générales 34
VI.1.2. Réactions anaphylactiques de grade II et III 35
VI.1.3. Réactions anaphylactiques de grade IV 36
VI.2.Problématique actuelle : Adrénaline et traitements alternatifs **37**
TRAVAIL EXPERIMENTAL **40**
I. Physiopathologie systémique et régionale (muscle squelettique, cerveau et système respiratoire) **41**
I.1. Physiopathologie systémique **41**
I.2. Conséquences régionales du choc anaphylactique: muscle squelettique, cerveau et poumon **42**
I.2.1 Muscle squelettique 42
I.2.2. Cerveau 43
I.2.2.1. Les facteurs régulant le DSC 44
I.2.2.1.1. Capnie 44
I.2.2.1.2. Hypoxie 44
I.2.2.1.3. Hémodilution 45
I.2.2.1.4. Autorégulation cérébrale 45
I.2.2.2. Rationnel de l'étude : 46
I.2.2.3. Publication 49
I.2.2.4. Résultats et synthèse de la publication 67
I.2.3. Poumon 68
I.2.3.1. Tonus bronchomoteur 68
I.2.3.2.Facteurs anesthésiques : 69
I.2.3.3. Bronchospasme 71
I.2.3.4. Hyperperméabilité bronchique et pulmonaire 71
I.2.3.5. Rationnel de l'étude : 72
I.2.3.6. Publication: 74
I.2.3.7. Résultats et synthèse de la publication 91
II. Traitement du choc anaphylactique **92**
II.1. Quel vasoconstricteur : vasopressine *vs* adrénaline **92**
II.1.1.Circulation cérébrale : vasopressine *vs* adrénaline 93
II.1.1.1.Rationnel de l'étude 93
II.1.1.2. Publication 95
II.1.1.3.Résultats et synthèse de la publication 112
II.1.2.Bronchospasme : vasopressine *vs* adrénaline 113
II.1.2.1. Rationnel de l'étude 113
II.1.2.2. Publication 114
II.1.2.3. Résultats et synthèse de la publication 119

II.2. Quel soluté de remplissage : salé hypertonique *vs* salé isotonique *vs* HES ? 120
II.2.1. Rationnel de l'étude 120
II.2.1.1.Les cristalloïdes 120
II.2.1.1.1.Les cristalloïdes isotoniques 120
II.2.1.1.2. Les cristalloïdes hypertoniques 120
II.2.1.2. Les colloïdes 121
II.2.1.2.1. L'albumine 121
II.2.1.2.2.Les dextrans 121
II.2.1.2.3. Les gélatines fluides modifiées 122
II.2.1.2.4. Les hydroxyéthylamidons (HES) 122
II.2.1.3. Le choc anaphylactique et les solutés de remplissage 123
II.2.2. Publication 125
II.2.3. Résultats et synthèse de la publication 144

II.3. Quel adjuvant : le bleu du méthylène ? 145
II.3.1.Les inhibiteurs de la voie du NO et choc anaphylactique 145
II.3.1.1. Inhibiteurs de la voie du NO 145
II.3.1.2. Les inhibiteurs des NO synthases 146
II.3.1.3. Les inhibiteurs de la guanylate cyclase 146
II.3.2. NO et circulation cérébrale 147
II.3.3. Rationnel de l'étude 148
II.3.4. Publication 149
II.3.5. Résultats et synthèse de la publication 173

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 175

I. Conclusion 176

II. Perspectives 177

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 178

Résumé 191

LISTE DES ABREVIATIONS

AD	Adrénaline
AG	Aminoguanidine
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
ATP	Adénosine-5'-triphosphate
AVP	Arginine vasopressine
C1,C3 et C5	Molécule du compléte
CA	Choc anaphylactique
Ca2+	Calcium
CD	Clusters de Différenciation
CO_2	Dioxyde de carbone
$cPtiO_2$	Pression partielle cérébrale en oxygène
DSC	Débit sanguin cérébral
EDTA	Ethyl Diamine Tétra Acétate
EPI	Epinephrine
GCs	Guanylate cyclase soluble
GERAP	Groupe d'Etudes des Réactions Anaphylactiques per anesthésiques
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
GMPc	guanosinemonophosphate cyclique
H1, H2, H3 et H4	Récepteur d'histamine
HES	Hydroxyéthylamidons
HIF	Hypoxia-inducible Factors
HSI	Hypersensibilité immédiate
IgE	Immunoglobuline de classe E
IgG	Immunoglobuline de classe G
IL	Interleukine
ILT	Immunoglobulin-Like Transcript
LCR	Liquide céphalo-rachidien
L-NAME	N-nitro-L-arginine-méthyl ester
LPS	Lipopolysaccharide
MB	Bleu de méthylène
MHC II	Major histocompatibilité de classe II

MIP-2	Macrophage Inflammatory Protein 2
mPtio2	Pression partielle musclaire en oxygène
NANC	Non adrénergique non cholinergique
NF-κB	Nuclear Factor-κB
7-NI	7-nitroindazole
NO	Monoxyde d'azote
NOS	NO synthase
NOSe	NOS endothéliale
NOSi	NOS inductible
NOSn	Neuronal NOS
ODQ	1H-oxadiazole quinoxaline-1-one
OVA	Ovalbumine
PAF	Platelet Activating Factor
PAF-AH	PAF acétylhydrolase
PAM	Pression artérielle systémique moyenne
PGD2	Prostaglandines D2
PGE2	Prostaglandine E2
PPC	La pression de perfusion cérébrale
RIA	Radioimmunologique
Rrs	Résistance respiratoire
SFAR	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
SSH	Sérums salés hypertoniques
SSI	Solutés salés isotonique
TNF	Facteur de nécrose tumorale
TXA2	Thromboxane
Zrs	Impédance respiratoire

CONTEXTE

I. Définition du choc anaphylactique

Le choc anaphylactique est l'expression clinique d'une série de réactions déclenchées par l'introduction dans l'organisme d'un allergène. Il s'agit de la manifestation la plus sévère des réactions d'hypersensibilité immédiates (HSI), c'est-à-dire survenant dans l'heure suivant l'administration de l'allergène. Les manifestations cliniques observées se rapportent en fait à deux mécanismes très différents. On distingue en effet sur le plan physiopathologique les réactions d'HSI non allergiques des réactions d'HSI allergiques, de mécanisme immunologique (Johansson, Bieber et al. 2004). Bien que les deux entités soient indissociables par la clinique seule, les réactions anaphylactiques d'origine allergique sont souvent plus sévères(Mertes, Malinovsky et al. 2011).

II. Epidémiologie des réactions d'hypersensibilité immédiates

L'incidence des réactions d'hypersensibilité immédiates (HSI) au cours de la période péri-opératoire, leur morbidité et leur mortalité sont imparfaitement connues. Ceci est lié aux difficultés méthodologiques inhérentes à la surveillance d'événements rares concernant la qualité et l'exhaustivité des données recueillies conduisant le plus souvent à une probable sous-estimation de l'incidence réelle des réactions (Sachs and Bortnichak 1986; Tsong 1995; Laake and Rottingen 2001; Mertes, Guttormsen et al. 2007; Malinovsky, Decagny et al. 2008). Depuis les années 1970, cette incidence semble être en augmentation. Toutefois, lorsque l'on considère les différentes catégories de substances concernées, la réalité est plus contrastée, la fréquence étant en augmentation pour certaines d'entre elles, et stable, voire en diminution pour d'autres (Mertes, Alla et al. 2003; Mertes and Laxenaire 2004). Des différences significatives sont parfois observées entre différents pays. Cette variabilité peut être due à de multiples facteurs tels que l'influence de facteurs génétiques et environnementaux, des différences de pratique clinique ou encore des différences concernant les protocoles diagnostiques utilisés.

La fréquence des réactions d'HSI, tous mécanismes confondus, varie de 1 /3.500 à 1/20.000 anesthésies selon les séries (Fisher and More 1981; Youngman, Taylor et al. 1983; Galletly and Treuren 1985; Watkins 1985; Whittington and Fisher 1998; Laxenaire 1999;

Escolano, Valero et al. 2002; Mertes and Laxenaire 2002; Mertes and Laxenaire 2004; Harboe, Guttormsen et al. 2005). Environ 60% à 70% des réactions d'HSI sont médiées par des IgE(Mertes, Alla et al. 2011; Mertes, Malinovsky et al. 2011).

Récemment, une estimation précise de l'incidence des réactions anaphylactiques d'origine allergique en France a pu être réalisée en analysant de manière combinée les données des bases de données de la pharmacovigilance française et du GERAP, à l'aide d'une technique de capture/recapture (Mertes, Alla et al. 2011). La fréquence des réactions allergiques est estimée à 100,6 [76,2-125,3]/million d'anesthésies dans la population générale (hommes : 55,4 [42,0-69,0], femmes : 154,9 [117,2-193,1])(Sfar 2011; Mertes, Demoly et al. 2012).

La mortalité estimée est de 3,5 à 10% (Mitsuhata, Matsumoto et al. 1992; Currie, Webb et al. 1993; Axon and Hunter 2004; Light, Lovell et al. 2006; Mertes, Aimone-Gastin et al. 2008).

Dans la plupart des séries, les curares sont les substances les plus fréquemment incriminées, représentant de 50 à 70% des réactions allergiques immédiates (Galletly and Treuren 1985; Fisher and Baldo 1994; Mertes, Alla et al. 2003; Mertes and Laxenaire 2004). Toutefois, des différences importantes sont observées selon les pays. En France, l'incidence des réactions d'hypersensibilité immédiate à médiation IgE dues à un curare a été initialement estimée à 1/6500 anesthésies (Laxenaire 2002), et semble relativement stable (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2003; Mertes and Laxenaire 2004). Récemment, une estimation plus précise a pu être établie. Celle-ci est évaluée à 184,0 [139,3-229,7]/million d'anesthésies ayant comporté l'administration d'un myorelaxant, s'élevant jusqu'à 250,9 [189,8-312,9]/million chez la femme (Mertes, Alla et al. 2011).

En Norvège, elle est de 1/3000 à 1/110000 anesthésies, représentant plus de 90% des réactions enregistrées dans ce pays (Harboe, Guttormsen et al. 2005), alors qu'elle s'avère bien moins fréquente au Danemark et en Suède (Garvey, Roed-Petersen et al. 2001; Florvaag, Johansson et al. 2005; Kroigaard, Garvey et al. 2005). Certaines différences concernant le risque relatif de survenue d'une réaction allergique selon les curares ont été rapportées. La plupart des auteurs considèrent que ce risque est plus élevé avec la succinylcholine (Birnbaum and Vervloet 1991; Mata, Gueant et al. 1992; Moneret-Vautrin and Laxenaire 1993; Birnbaum, Porri et al. 1994; Mertes and Laxenaire 2000; Laxenaire, Mertes et al. 2001; Moneret-Vautrin and Kanny 2002; Mertes, Alla et al. 2003; Fisher 2004; Mertes and

Laxenaire 2004; Mertes, Aimone-Gastin et al. 2008). L'hypothèse d'une fréquence accrue de réactions allergiques impliquant le rocuronium est plus controversée, certaines séries mettant en évidence une fréquence accrue des réactions comparées à la fréquence d'utilisation de ce produit (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2003; Mertes and Laxenaire 2004; Mertes, Aimone-Gastin et al. 2008), alors que d'autres auteurs considèrent que la fréquence des réactions dues au rocuronium est en relation avec la fréquence de son utilisation (Rose and Fisher 2001; Watkins 2001; Bhananker, O'Donnell et al. 2005).

Les réactions allergiques au latex ont connues une augmentation rapide au cours des vingt dernières années, en raison de l'augmentation de l'utilisation de gants en latex. Elles représentent à présent environ 20% des réactions allergiques observées en France (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2003). Toutefois, l'utilisation de latex de meilleure qualité (moins riche en protéines) et non poudrés, parfois dans le cadre d'une politique de prévention primaire permet de diminuer l'incidence de ces allergies (Allmers, Brehler et al. 1998).

Les réactions allergiques aux antibiotiques, essentiellement aux bêta-lactamines, ont également connues une augmentation rapide. Alors qu'elles ne représentaient que 2% des produits incriminés en France en 1989, cette proportion s'élevait à 14,7% dans la dernière enquête publiée par le GERAP (Groupe d'Etudes des Réactions Anaphylactiques Per anesthésiques) (Laxenaire, Moneret-Vautrin et al. 1990; Mertes and Laxenaire 2004). Cette augmentation est vraisemblablement en rapport avec leur utilisation croissante en prophylaxie (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2003).

Les réactions allergiques aux hypnotiques, et aux anesthésiques locaux sont rares, représentant 0,8% et 0,6% des réactions observées en France. Les réactions impliquant les morphiniques sont également peu fréquentes (2,4% des réactions), ainsi que les réactions aux solutés de remplissage (2,8% des réactions) qui sont essentiellement dues aux gélatines (Mertes and Laxenaire 2004).

Enfin, il faut garder à l'esprit que tous les médicaments ou substances auxquelles le patient est exposé durant la période péri-opératoire peuvent être à l'origine d'une réaction d'hypersensibilité immédiate. Ainsi, une fréquence particulière des réactions impliquant le bleu patenté (utilisé dans le repérage des ganglions sentinelles en chirurgie carcinologique) en France (Mertes, Malinovsky et al. 2008) ou la chlorhexidine a été récemment mis en évidence

dans certaines séries de la littérature (Garvey, Roed-Petersen et al. 2001; Garvey, Kroigaard et al. 2007).

III. Physiopathologie des réactions d'hypersensibilité immédiates

Le choc anaphylactique est l'expression clinique la plus sévère des réactions d'hypersensibilité immédiates(HSI). Les mécanismes d'HSI sont multiples. En anesthésie, réactions observées sont essentiellement des réactions de type I de la classification de Gell et Coombs.

III.1. Mécanisme physiopathologiques

III.1.1.Réactions d'hypersensibilité immédiates allergiques

La séquence d'évènements au cours d'une réaction d'hypersensibilité immédiate de nature allergique débute par la production d'IgE par des lymphocytes B en réponse à une sensibilisation initiale contre un antigène. A l'occasion d'un premier contact (contact préparant), l'allergène incriminé est internalisé par des cellules dites présentatrices d'antigènes, telles que les cellules dendritiques (Banchereau, Paczesny et al. 2003; Bieber 2007). Des fragments de cette molécule, associés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (MHC II) sont alors présentés par ces cellules spécialisées aux lymphocytes T. Cette présentation de l'antigène par les cellules dendritiques constitue une étape essentielle, permettant d'induire une réponse immunitaire spécifique par les lymphocytes T naïfs qui activeront à leur tour les lymphocytes B (de Weck 1993). Ces lymphocytes B activés sont responsables de la sécrétion d'anticorps solubles, habituellement des immunoglobulines de classe E (IgE), plus rarement de classe G (IgG), qui reconnaissent l'antigène natif. Ces IgE spécifiques se fixent sur des récepteurs dits de haute affinité ($Fc_{\varepsilon}RI$) situés sur la membrane des mastocytes et des basophiles (Figure 1), ainsi que sur des récepteurs de faible affinité (Fc_{ε} RII) situés à la surface des plaquettes et des éosinophiles. La phase de sensibilisation est silencieuse et dure habituellement 10 à 15 jours. Des travaux récents conduit chez la souris, mettent en évidence des réactions d'anaphylaxie systémique dépendant des IgG et des récepteurs IgG (FcγRIIIA et FcγRIV) exprimée par les neutrophiles, plutôt que sur les IgE et

FcsRI exprimé par les mastocytes et les basophiles (Jonsson, Mancardi et al. 2012; Mancardi, Albanesi et al. 2013).

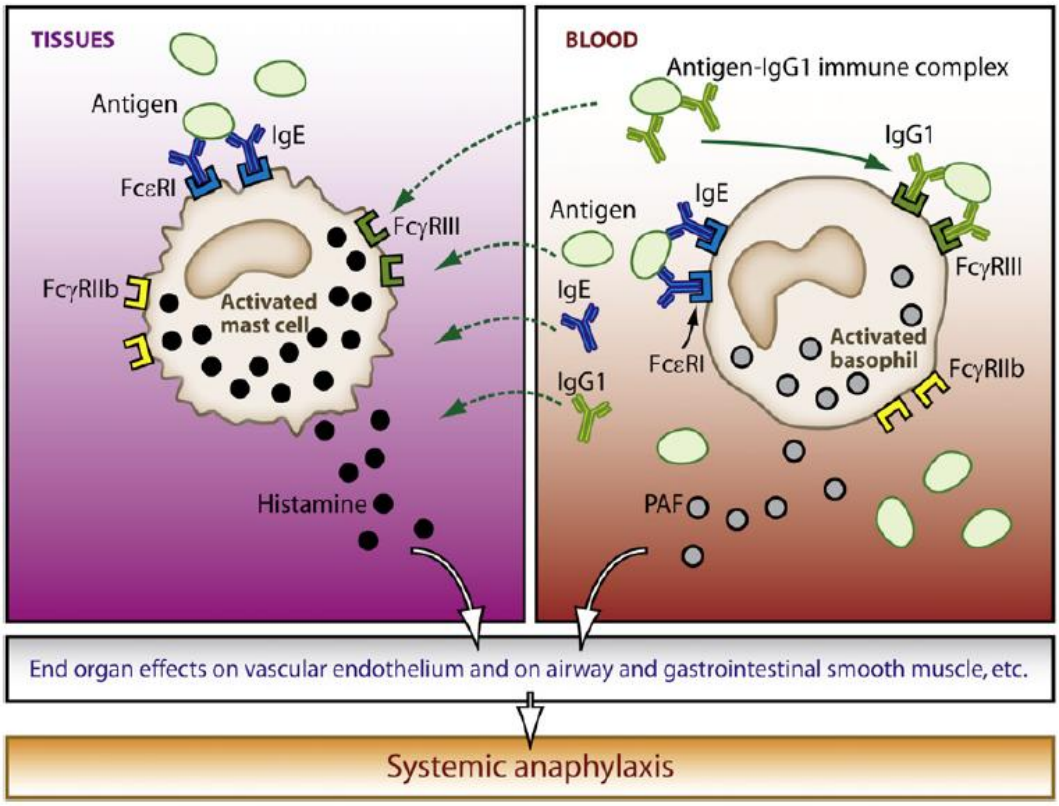


Figure 1 : Les contributions des mastocytes et les basophiles à l'anaphylaxie systémique chez la souris(Galli and Franco 2008).

Un contact ultérieur avec l'antigène (contact déclenchant) entraîne l'activation des cellules effectrices, principalement les mastocytes, les basophiles et les neutrophiles, par le biais de la transduction d'un signal d'activation résultant du pontage des complexes IgE-récepteurs ou IgG-récepteurs par l'allergène(Jonsson, Mancardi et al. 2012). Elle est conditionnée par l'affinité de l'allergène pour l'anticorps, et par le nombre de ces anticorps fixes à la surface de la cellule. Cette activation conduit à la libération (i) de médiateurs préformés contenus dans les granules des cellules effectrices tels que l'histamine (Chrusch, Sharma et al. 1999; Chazot and Hann 2001; Bachert 2002; Bakker, Timmerman et al. 2002; Schneider, Rolli-Derkinderen et al. 2002; Winbery and Lieberman 2002), les protéases et protéoglycanes(Schwartz, Kawahara et al. 1983; Schwartz, Metcalfe et al. 1987; He and Walls 1997; Coelho, Ossovskaya et al. 2003; Payne and Kam 2004; Reed and Kita 2004; Itoh, Sendo et al. 2005; Kanke, Takizawa et al. 2005), la sérotonine ou pour une part le TNFα, (ii) de médiateurs nouvellement synthétisés, incluant des dérivés lipidiques pro-inflammatoires

(prostaglandines, leucotriènes, PAF) (Mertes and Laxenaire 2006; Mancardi, Iannascoli et al. 2008), des cytokines (IL-1, -3, -4, -13, -5, -10, GM-CSF), des chimiokines (MIP-1α et -1β), des radicaux libres et du monoxyde d'azote.

Les actions biologiques de l'ensemble de ces médiateurs sont responsables de la symptomatologie observée.

III.1.2.Réactions d'hypersensibilité immédiates non allergiques

Elles correspondent le plus souvent à une libération non-spécifique d'histamine (Fisher and Baldo 1994; Mertes and Laxenaire 2002). Celle-ci est la conséquence d'une activation directe des voies métaboliques responsables de la libération des médiateurs par les mastocytes et par les basophiles (Paton 1957; Lorenz, Duda et al. 1994; Genovese, Stellato et al. 1996). En fait, ce sont surtout des médiateurs préformés et non des médiateurs néoformés qui seraient libérés. Dans le cadre d'une réaction secondaire à un médicament, l'importance de cette histaminolibération non spécifique *in vivo* et l'intensité des manifestations cliniques sont imprévisibles, mais dépendent des associations médicamenteuses, de leur osmolarité et de la vitesse d'injection, ainsi que du terrain du patient (Scott, Savarese et al. 1985; Fisher and Baldo 1994). Ainsi, la sommation de plusieurs vagues d'histaminolibération en rapport avec l'injection intraveineuse rapide de plusieurs agents histaminolibérateurs peut aboutir à une histaminémie élevée associée à des signes cliniques de gravité, alors que chaque vague prise isolément aurait été sans conséquences cliniques.

Le système du complément peut également être mis en jeu dans les réactions non allergiques. Le complément peut être activé par la voie alterne au niveau de C3 aboutissant à la production d'anaphylatoxines C3a et C5a, responsables des manifestations d'hypersensibilité immédiate (Kishimoto, Viswanathan et al. 2008). L'activation par la voie classique peut être d'origine non immunologique ou immunologique par des complexes immuns comme cela a pu être décrit avec les dextrans ou la protamine (Best, Teisner et al. 1983). La voie alterne, d'origine non immunologique, est incriminée par certains auteurs dans la genèse de certaines réactions d'hypersensibilité aux produits iodés de contraste (Lasser, Lang et al. 1979). Toutefois, l'existence d'un mécanisme anaphylactique médié par des IgE est également évoquée (Laroche, Aimone-Gastin et al. 1998; Laroche, Namour et al. 1999).

L'activation du complément n'est pratiquement plus incriminée avec les produits anesthésiques actuels. En revanche, elle est responsable des manifestations cliniques survenant au cours de l'œdème angioneurotique héréditaire ou acquis, où la cascade du complément est activée par déficit en inhibiteur de la C1 estérase (Frank 2008), aboutissant à la libération de peptides anaphylactiques, chimiotactiques et vaso-actifs (C3a et C5a ou anaphylatoxines) avec comme résultat une augmentation de la perméabilité vasculaire et un œdème local massif par élévation de la bradykinine ; celle-ci est libérée à partir du système kallicréines-kinines activé par le facteur XII (facteur de Hageman). Ces signes peuvent apparaître spontanément ou lors de traumatismes minimes, induits par les gestes anesthésiques et opératoires.

D'autres mécanismes sont vraisemblablement impliqués dans la genèse des réactions d'hypersensibilité non allergiques. C'est le cas des réactions d'hypersensibilité aux AINS dont les manifestations cliniques sont liées à l'inhibition de la cyclooxygénase de type 1 conduisent à une production accrue de leucotriènes responsable de la symptomatologie observée (Sanchez-Borges, Capriles-Hulett et al. 2004; Kim and Park 2006; Knowles, Drucker et al. 2007; Leimgruber 2008). Des réactions d'hypersensibilité secondaire à un déséquilibre dans le niveau d'inhibition des récepteurs muscariniques M2 versus M3 conduisant à des bronchospasmes mortels ont également été décrites lors de l'administration de rapacuronium chez l'enfant (Koppert, Blunk et al. 2001; Jooste, Klafter et al. 2003; Jooste, Zhang et al. 2005). Plus récemment, des réactions secondaires à la production de bradykinine ont été rapportées en relation avec la présence de contaminants de certaines héparines (chondroïtinehypersulfatée) (Kishimoto, Viswanathan et al. 2008).

III.2. Mécanismes cellulaires et médiateurs impliqués

III.2. 1. Caractéristiques cytologiques

III.2. 1.1. Mastocyte

Les principales cellules impliquées dans l'hypersensibilité due aux IgE sont les mastocytes. Les mastocytes répondent à la stimulation par l'allergène en libérant par dégranulation des médiateurs préformés stockés dans 50 à 200 vésicules intracytoplasmiques, ainsi que des médiateurs néosynthétisés tels que des chimiokines, des cytokines, des prostaglandines et des leucotriènes. La molécule CD117 exprimée à la surface de certaines

cellules hématopoïétiques est indispensable à la différenciation de ces dernières en mastocytes. Les souris mutées sur cette molécule sont dépourvues de mastocytes. Elles sont protégées, partiellement ou totalement en fonction des modèles et des publications, contre le choc anaphylactique, malgré l'expression d'anticorps IgG1 et IgE spécifiques de l'allergène au même niveau que chez les souris sauvages (Tsujimura, Obata et al. 2008). Cependant, plusieurs publications ont montré qu'une anaphylaxie fatale pouvait être observée en l'absence de mastocyte (Choi, Shin et al. 1998). Les mastocytes sont caractérisés par une grande hétérogénéité en fonction des tissus dans lesquels ils résident. On en distingue en particulier deux types en fonction de leur contenu en protéases neutres: ceux des muqueuses (MCT) contenant uniquement de la tryptase, et ceux des tissus conjonctifs contenant également de la chymase et de la carboxypeptidase. On peut également distinguer des types tissulaires spécifiques (cardiaques, pulmonaires …)(Stellato, de Paulis et al. 1991).

III.2. 1.2. Basophiles

Les basophiles sont des granulocytes représentant moins de 1% des leucocytes du sang circulant. Ils sont issus de cellules progénitrices CD34+ retrouvées dans le sang de cordon, le sang circulant et la moelle osseuse. Leur cytoplasme contient des granules renfermant un assortiment de médiateurs similaires, mais non identique en tous points, à ceux des mastocytes. Ils ne contiennent en particulier que de très faibles quantités de tryptase. Un travail récent a suggéré que, chez la souris, les basophiles étaient inutiles à l'anaphylaxie médiée par IgE, mais indispensable à l'anaphylaxie médiée par IgG. Les auteurs distinguent deux voies schématiques de l'anaphylaxie: celle médiée par les IgE, les mastocytes et l'histamine et celle médiée par les IgG, les basophiles et le PAF (Platelet Activating Factor) (Tsujimura, Obata et al. 2008).

III.2. 1.3. Neutrophiles

L'importance du rôle des polynucléaires neutrophiles, les récepteurs activateurs aux IgG (FcγR) , les IgG et le PAF dans les modèles murins d'anaphylaxie, mais aussi potentiellement chez l'homme a récemment été mise en évidence récemment. Ce modèle d'anaphylaxie est létal pour des souris sauvages, mais pas pour des souris n'exprimant pas de récepteurs activateurs pour les anticorps. En revanche, ni l'absence des FcεRI et FcεRII) et de trois réceptuers pour IgG (FcγRI, FcγRIIB et FcγRIII) n'affecte la sévérité ou la mortalité

induites par le choc. Ces souris, déficientes pour 5 récepteurs aux IgE et IgG(souris 5KO), expriment un seul récepteur activateur pour les IgG, le FcγRIV. L'injection d'anticorps anti-FcγRIV bloquants abolit le choc dans les souris 5KO. Le FcγRIV est exprimé uniquement par les monocytes/macrophages et les neutrophiles qui ne sont pas, a priori, des effecteurs du choc allergique. Cependant, le choc anaphylactique est aboli chez les souris 5KO lorsqu'on déplète les neurophiles (mais pas les monocytes/macrophages). Les neutrophiles sont donc responsables du choc anaphyactique induit par la stimulation des recepteurs FcγRIV(Mancardi, Iannascoli et al. 2008).

L'étude de Jonsson en 2011 démontre aussi le transfert de neutrophiles murins ou de neutrophiles humains restaure le choc anaphylactique chez des souris résistantes au choc anaphylactique actif, n'exprimant pas de FcR activateurs. Les neutrophiles sont donc suffisants pour induire un choc anaphylactique actif. Plus récent, il a identifié les mastocytes comme responsable de l'anaphylaxie passive cutanée FcγRIIa dépendant, et les monocytes/macrophages et des neutrophiles comme responsable de l'anaphylaxie passive systémique FcγRIIa dépendant. Les mastocytes humains. Monocytes et neutrophiles produisent les médiateurs anaphylactogènes après l'engagement FcγRIIa. IgG et FcγRIIa peut donc contribuer aux réactions allergiques et anaphylactiques chez les humains.

III.2. 2. Médiateurs impliqués

III.2. 2.1. Histamine

L'histamine est le médiateur le plus connu et joue un rôle essentiel. Il est l'amine produit par décarboxylation de l'acide aminé histidine, elle est l'un des principaux médiateurs libérés au cours de l'anaphylaxie et joue un rôle majeur dans la symptomatologie (Gueant, Aimone-Gastin et al. 1998). Par ailleurs, histamine est un médiateur qui est censé jouer le rôle le plus significatif dans l'origine de la manifestation cardiovasculaire de l'anaphylaxie(Winbery and Lieberman 2002). Elle diffuse rapidement dans tout l'organisme pour atteindre ses cellules cibles et leurs récepteurs membranaires spécifiques(Bakker, Timmerman et al. 2002).Elle exerce son action par l'intermédiaire de la simulation d'une famille de récepteurs (H1, H2, H3 et H4) dont la répartition, variable selon les territoires, explique les effets biologiques observés(Khrais and Ouellette 1995). Dans le choc anaphylactique, les effets de l'histamine sur le système cardiovasculaire chez l'homme sont véhiculés par H1 récepteur et H2 récepteur. L'activation des récepteurs H1 entraîne une

contraction des muscles lisses des tractus respiratoire et digestif, une vasodilatation artériolaire, une augmentation de la perméabilité capillaire, un effet chimiotactique sur les polynucléaires neutrophiles et les éosinophiles. L'activation des récepteurs H2 entraîne une augmentation de la sécrétion gastrique acide et de la sécrétion de mucus au niveau des voies aériennes. Elle entraîne un effet inotrope et chronotrope positif myocardiaque. La stimulation des récepteurs H3 inhiberait la libération d'histamine. Des récepteurs H4 jouent un rôle immunomodulateur (Shahid, Tripathi et al. 2009; Tripathi, Shahid et al. 2012; Tripathi, Khan et al. 2013).

L'un des mécanismes par lesquels l'histamine peut affecter le système vasculaire implique l'oxyde nitrique. L'oxyde nitrique provoque une vasodilatation indirectement par augmentation de l'activation de la guanylate cyclase, ce qui augmente alors la concentration de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) du muscle lisse (Friebe and Koesling 2003). Le GMPc, à son tour, provoque la relaxation du muscle lisse vasculaire.

Toutefois l'histamine libérée est rapidement métabolisée par la méthyltransférase en méthylhistamine dont l'élimination est urinaire. L'histamine est un marqueur non spécifique qui est libéré par les basophiles et les mastocytes mais dont la demi-vie est courte (1 à 3 minutes dans le sang). L'histaminémie peut être dosée lors d'un choc anaphylactique et une histaminémie élevée permettra d'affirmer l'activation des basophiles du patient.. Il existe quelques limites à ce dosage, en particulier l'altération des basophiles dans le tube prélevé qui provoque des faux positifs et à l'inverse une disparition de l'histamine in vivo qui est responsable de faux négatifs.

Toutefois si ce dosage ne peut être réalisé rapidement, il est possible d'effectuer un dosage de méthylhistamine urinaire 1 à 2 heures après la survenue du choc. Pour ce dosage le moment du recueil des urines est très important. En effet un prélèvement précoce ne permet pas de retrouver une quantité suffisante de méthylhistamine dans les urines. Ceci explique, pour certains auteurs, le manque de sensibilité diagnostique de ce dosage urinaire.

L'histamine libérée aura les principaux effets suivants:

– L'histamine induit au niveau cutané, une vasodilatation, une rougeur, et une augmentation de la perméabilité vasculaire induisant un oedème interstitiel.

– Au niveau pulmonaire, elle induit une broncho-constriction, une augmentation des secrétions bronchiques et une vasodilatation des artères pulmonaires.

– Les récepteurs H1et H2 à l'histamine sont présents au niveau auriculaire et ventriculaire chez l'homme. La stimulation des récepteurs de type H1 provoque un ralentissement de la conduction auriculo-ventriculaire et exerce un effet inotrope négatif et vasoconstricteur coronaire. À l'inverse, la stimulation des récepteurs H2 augmente l'excitabilité, exerce un effet inotrope positif et entraîne une vasodilatation coronaire. Enfin, la stimulation des récepteurs de type H3, en inhibant la libération de noradrénaline, contribue également à l'aggravation du collapsus cardiovasculaire.

– Au niveau vasculaire l'histamine induit une vasodilatation artériolaire et une augmentation de la perméabilité capillaire.

III.2. 2.2. Tryptase

La tryptase est une sérine protéase neutre considérée comme un marqueur spécifique des mastocytes. Sa demi-vie plasmatique de 1 à 2 heures en fait un témoin utilisé en clinique dans le diagnostic de l'activation mastocytaire dont les réactions d'hypersensibilité immédiate IgE médiées. Entre autres actions, la tryptase participe à l'hyperperméabilité vasculaire observée au cours du choc anaphylactique en activant les récepteurs PAR-2 endothéliaux(Itoh, Sendo et al. 2005).

III.2. 2.3. Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) a été récemment identifié comme un médiateur produit par de nombreuses cellules (cellules endothéliales, myocardiques, neutrophiles, plaquettes, cellules nerveuses, mastocytes, cellules rétiniennes, cellules mésangiales, macrophages…). Le NO assure diverses fonctions de régulation du système cardiovasculaire, du système nerveux central et immunitaire. Il est produit par une enzyme, la NO synthase (NOS), à partir de la L-arginine. Trois isoformes sont connues. Les isoformes exprimées constitutivement, la NOS endothéliale (NOSe) et neuronal NOS (NOSn),de permettent produire de faibles quantités de NO pour des fonctions physiologique et /ou anti-inflammatoire. Ces NOS constitutives produisent le NO en petite quantité en réponse aux augmentations de calcium intracellulaire. En revanche, l'inflammation associée à expression de la synthase inductible du NO (NOSi) et la surproduciton ultérieure du NO et l'activation de la guanylate cyclase ont été impliqués dans des effets préjudiciables cardiovasculaires associés au choc septique. Différents médiateurs de l'inflammation (le facteur de nécrose tumorale (TNF), NF-κB…) et les

endotoxines (par exemple le lipopolysaccharide (LPS)) déclenchent la transcription de novo de la NOSi, qui ne sera présente et active qu'au bout de quelques heures. Elle produit le NO en grande quantité sur des périodes de temps prolongées par un mécanisme ne dépendant pas du calcium. Cette production massive peut être par exemple à visée cytoxique antimicrobienne.

La description historique des isoformes comme spécifique d'un tissu a évolué : la NOSn est aussi présente dans le muscle squelettique et cardiaque, et la NOSe dans le muscle cardiaque, les plaquettes, les neurones hippocampiques, les cellules épithéliales rénales et les mastocytes. La conception d'une spécificité du caractère constitutif/inductible a aussi évolué: la NOSi est exprimée constitutivement dans certaines cellules épithéliales du poumon et du tube digestif; l'activité de la NOSe peut être régulée, au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel, par acylation, phosphorylation, interactions avec d'autres protéines et en fonction de sa localisation sub-cellulaire (Fleming and Busse 2003).

Les données plus récentes indiquent que le NO peut être produit par ses enzymes spécifiques (NOSe, NOSi) mais aussi par réduction du nitrite, qui est une forme de stockage du NO. Cette réduction peut être effectuée de différentes façons, par l'action de la désoxyhémoglobine, de la xanthine oxydase, de la mitochondrie ou d'une dismutation acide.

La NOSe est normalement activée par des médiateurs vasoactifs par l'intermédiaire d'une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} dans la cellule endothéliale. La NOSe peut être aussi phosphorylée par la voie PI3K/Akt de façon indépendante du Ca2+ (par l'action du stress de paroi, des oestrogènes, de l'insuline ou de médiateurs inflammatoires).

Après la synthèse du NO dans la cellule endothéliale, la conception classique de cette voie de signalisation est la liaison du NO sur l'hème-Fe2+ de la guanylate cyclase soluble (GCs) dans les cellules musculaires lisses adjacentes, entraînant une modification conformationnelle de l'enzyme, l'activant pour la production de guanosine monophosphate cyclique (GMPc), médiateur final de la vasodilatation(Evora and Simon 2007).

La conception ancienne de l'implication du NO dans les états de choc était la suivante : la production excessive et soutenue de NO serait assurée par la NOSi, responsable d'une vasodilatation intense et d'une hyporéactivité vasculaire aux catécholamines entraînant une hypotension prolongée puis l'état de choc. La NOSi, est capable de produire du NO en grande quantité mais nécessite l'activation de son expression par les médiateurs de l'inflammation.

Cette cinétique est possible dans le cadre du choc septique, car il s'installe progressivement sur plusieurs heures voire jours, par contre ce postulat ne permet pas d'expliquer la libération massive de NO dans le choc anaphylactique qui est un choc quasi-immédiat, s'installant en quelques minutes.

Des données plus récentes soulignent l'implication de la NOSe, enzyme constitutive pouvant être régulée (cf supra)(Fleming and Busse 2003). Chez la souris et le rat, c'est la NOSe qui est impliqué dans l'hypotension artérielle du choc anaphylactique et pas la NOSi (Szabo and Thiemermann 1994; Cauwels, Janssen et al. 2006). A la phase initiale du choc hémorragique, la NOSe est activée, puis à sa phase tardive c'est la NOSi qui est responsable de l'hyporéactivité vasculaire aux catécholamines. Au cours du choc septique, c'est la NOSi qui semble être principalement responsable de cette dysfonction vasculaire(Cauwels 2007).

Le NO produit par la NOSn, présente dans les neurones du tronc cérébral, centre du système nerveux sympathique, pourrait réguler le tonus vasculaire sympathique par l'intermédiaire du baro-réflexe sympathique en cas d'hypotension. La NOSn est aussi impliquée dans le contrôle périphérique du tonus du système vasculaire.

Les données récentes excluent la seule implication de la guanylate cyclase soluble dans la vasorelaxation induite par le NO. Le NO entraîne la relaxation de la cellule musculaire lisse par une myriade d'actions se résumant à la diminution de la concentration en Ca^{2+}cytosolique et à la réduction de la sensibilité au Ca^{2+} de l'appareil contractile et ce en partie par des mécanismes indépendants de la guanylate cyclase (activation des canaux potassiques Ca^{2+} et voltage dépendants par l'intermédiaire du 20-HETE et par S-nitrosation et la recapture du Ca2+ par le réticulum endoplasmique par l'intermédiaire des peroxynitrites). Néanmoins la plupart des effets vasorelaxants dépendent de la GCs, elle active les PKG (protéines kinases dépendantes de la GMPc), elles-mêmes activant les phosphatases des chaînes légères de myosine (MLC)(Figure 2).

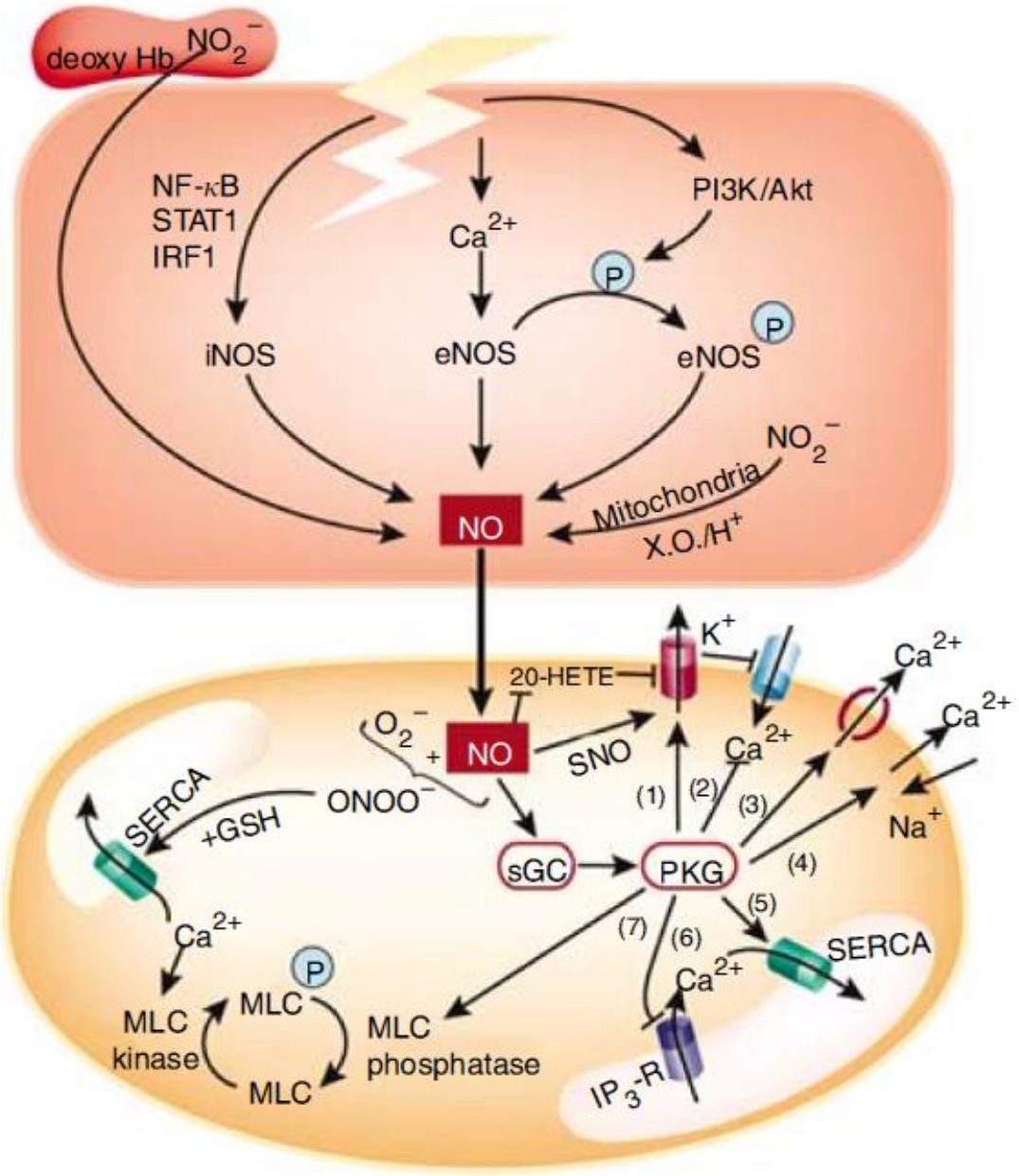


Figure 2 *:* Schéma des différents mécanismes moléculaires potentiellement impliqués dans la vasorelaxation induite par le NO(Cauwels 2007).

III.2.2.4. Le Platelet Activating Factor (PAF)

Le PAF est un médiateur phospholipidique secrété par les mastocytes, les plaquettes, les macrophages alvéolaires et les polynucléaires neutrophiles. Ses activités biologiques induisent l'agrégation plaquettaire, une vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité capillaire et une broncho-constriction.

Sa synthèse a lieu selon un processus de modification enzymatique d'un éther phospholipide (1-alkyl,2-arachidonoyl-glycérophosphocholine) dont le résidu arachidonyle en sn-2 est remplacé par un résidu acétyle. Dans un premier temps, la phospholipase A2 en présence de Ca^{2+} vient hydrolyser la liaison ester en *sn*-2, libérant le LysoPAF (1-alkyl-glycérophosphocholine) et l'acide arachidonique, puis dans un second temps, la LysoPAFacétylCoA transférase ajoute le résidu acétyle au LysoPAF. Le PAF est la 1-alkyl,2-acétyl-glycérophosphocholine.

Le PAF exogène reproduit de nombreuses manifestations d'anaphylaxie expérimentale chez l'animal (Montrucchio, Alloatti et al. 2000). In vitro, le PAF est synthétisé et libéré rapidement de l'antigène stimulées mastocytes et des basophiles (Lie, Homburg et al. 2003). In vivo, des niveaux élevés de PAF circulé ont été détectés après stimulation antigénique chez les animaux sensibilisés(Stafforini, McIntyre et al. 2003), et dans l'anaphylaxie humaine(Vadas, Gold et al. 2008). Les taux sériques de PAF ont été directement corrélée et le sérum de PAF activité acétylhydrolase facteur était inversement corrélée à la sévérité des réactions anaphylactiques, l'activité de PAF acétylhydrolase (PAF-AH) est significativement plus faible chez les patients présentant des réactions anaphylactiques mortelles aux arachides que chez les patients du groupe contrôle (Vadas, Gold et al. 2008). Les antagonistes des récepteurs de PAF, qui inhibent la liaison du PAF pour le récepteur, réduisent la mortalité liée à l'anaphylaxie chez des modèles animaux (Finkelman, Rothenberg et al. 2005; Arias, Baig et al. 2009). Les souris qui est knockout des récepteurs du PAF présentait un taux de mortalité inférieur à l'anaphylaxie systémique que les souris de types sauvages(Ishii, Kuwaki et al. 1998). De plus, l'inactivation enzymatique du PAF par PAF-AH a été démontré de protection contre l'anaphylaxie chez des souris prétraitées avec la protéine recombinante humaine PAF-AH(Fukuda, Kawashima et al. 2000). En revanche, la carence du PAF-AH prédispose les patients vers une anaphylaxie sévère ou mortelle (Vadas, Gold et al. 2008).

III.2.2.5. Les autres médiateurs

L'anaphylaxie s'accompagne également de la production de très nombreux médiateurs lipidiques néoformés. Les leucotriènes, le facteur de nécrose tumorale et d'autres médiateurs peuvent aussi contribuer au syndrome anaphylactique. La relaxation induite par le leucotriène pour les vaisseaux splanchniques capacitifs veineux chez le chien est dépendante d'un endothélium intact. Dans ce système, l'inhibition de la synthase de l'oxyde nitrique avec

la N^G-nitro-L-arginine-méthyl ester et de l'inhibition de la guanylate cyclase avec des blocs de bleu de méthylène présente à effet des leucotriènes.

Ainsi, l'activation de la voie de cyclo-oxygénase conduit à la production de prostaglandines D2 (PGD2) par les mastocytes et de thromboxane A2 (TXA2) par les plaquettes. Les effets de ces médiateurs sont multiples : modulation de la contractilité du muscle lisse vasculaire, bronchique et utérin, augmentation de la perméabilité vasculaire, agrégation plaquettaire, sensations prurigineuses et douloureuses. L'activation de la 5 lipo-oxygénase aboutit à la production de leucotriènes LTB 4, LTC4, LTD4, LTE4. Les leucotriènes sont responsables d'une bronchoconstriction plus intese que celle liée à l'histamine. Ils entraînent également une vasoconstriction intense des artères coronaires associée à un effet inotrope négatif(Mertes, Laxenaire et al. 2005).

Les mastocytes activées libèrent du TNF. TNF est capable d'activer l'oxyde nitrique synthétase, avec la génération résultante de quantités accrues d'oxyde nitrique. Enfin, un commentaire récent suggère que l'oxyde nitrique produit par la synthase inductible de l'oxyde nitrique dans les mastocytes peut déclencher la production d'autres médiateurs de l'inflammation, tels que la prostaglandine E2.

IV.Symptomatologie clinique

Les symptômes cliniques et la sévérité des réactions anaphylactiques dépendent des effets des médiateurs libérés lors de la réaction sur les organes cibles. Les données épidémiologiques les plus récentes, recueillies en France, retrouvent un taux de 50 à 60% de réactions anaphylactiques documentées chez les patients adressés en consultation d'allergo-anesthésie à la suite d'une réaction d'hypersensibilité immédiate peranesthésique(Mertes, Alla et al. 2011; Mertes, Karila et al. 2011). Les symptômes cliniques retrouvés chez les patients présentant une réaction anaphylactique d'origine allergique IgE-médiée et les patients présentant une réaction d'origine non IgE-médiée sont relativement similaires (Tableau 1). L'identification du mécanisme de la réaction ne peut donc être établie sur les seuls arguments cliniques. Cependant, lorsque l'on utilise une classification basée sur le grade de sévérité de la réaction (Tableau 2), les manifestations cliniques apparaissent plus sévères chez les patients présentant une réaction d'origine allergique. Toutefois, des réactions allergiques d'intensité modérée (grade I ou II) ont pu être observées. De telles réactions peuvent être facilement

méconnues (Malinovsky, Decagny et al. 2008) et conduire, à l'occasion d'une anesthésie ultérieure, à une nouvelle exposition des patients à un médicament auquel ils sont sensibilisés. C'est pourquoi toute réaction d'hypersensibilité immédiate survenant au cours d'une anesthésie, quelle qu'en soit la gravité, doit bénéficier d'une investigation immédiate et à distance afin d'établir un diagnostic précis et gérer les recommandations qui en découlent en vue des anesthésies ultérieures.

Tableau 1 : Signes cliniques des réactions en fonction du mécanisme en cause pendant l'anesthésie en France entre le 1er Janvier 2005 et le 31 Décembre 2007(Dong, Mertes et al. 2012).

Signes cliniques	IgE		Non IgE	
	Nombre de patient	%	Nombre de patient	%
Signes cardiovasculaires	599	76.2	174	37.5
-Hypotension artérielle	268	34.1	87	18.7
-Collapsus cardiovasculaire	309	40	51	11.0
-Arrêt cardiaque	46	5.8	2	-
Bronchospasme	280	40.0	103	22.0
Signes cutanéomuqueux	551	71.0	438	94

Tableau 2 : Grades de sévérité clinique de la réaction d'hypersensibilité immédiate survenant en cours d'anesthésie(Ring and Messmer 1977).

Grade de sévérité	Symptômes
I	Signes cutanéomuqueux généralisés : érythème, urticaire, avec ou sans oedème angioneurotique
II	Atteinte multiviscérale modérée, avec signes cutanéomuqueux, hypotension et tachycardie inhabituelle, hyperréactivité bronchique (toux, difficulté ventilatoire)
III	Atteinte multiviscérale sévère menaçant la vie et imposant une thérapeutique spécifique = collapsus, tachycardie ou bradycardie, troubles du rythme cardiaque, bronchospasme ; les signes cutanés peuvent être absents ou n'apparaître qu'après la remontée tensionnelle.
IV	Inefficacité cardiocirculatoire. Arrêt respiratoire.
V	Décès par échec de la réanimation cardiopulmonaire.

Les réactions anaphylactiques peuvent survenir à n'importe quel moment de l'anesthésie. Cependant, la majorité des réactions apparaît dans les minutes suivant l'injection intraveineuse des produits anesthésiques ou des antibiotiques (Laxenaire and Moneret-Vautrin 1992; Fisher and Baldo 1994; Mertes and Laxenaire 2001; Mertes, Lambert et al. 2009). La surveillance des patients doit être étroite car la progression des symptômes peut déjà être bien établie lorsque le diagnostic est évoqué. Les signes cliniques initiaux les plus fréquemment rapportés sont l'absence de pouls, un érythème, une difficulté de ventilation, une désaturation, ou une baisse inexpliquée de la pression télé-expiratoire de CO_2 (Baumann, Studnicska et al. 2009). Lorsque la symptomatologie est d'apparition plus tardive, au cours de la période d'entretien de l'anesthésie, une allergie au latex, aux produits de remplissage ou à un colorant notamment dans le cadre du repérage de ganglions sentinelles en chirurgie carcinologique doit être évoquée (Bezu, Coutant et al. ; Moneret-Vautrin, Laxenaire et al. 1990; Laxenaire, Charpentier et al. 1994; Kreimeier, Christ et al. 1995; Cimmino, Brown et al. 2001; Scherer,

Studer et al. 2006; Mertes, Malinovsky et al. 2008). Une allergie au latex doit également être évoquée lors de réactions survenant durant les procédures gynécologiques. En effet, l'accumulation intra-utérine de particules de latex provenant des gants de l'obstétricien au cours des manœuvres obstétricales, peut être responsable d'un passage brutal dans la circulation sanguine à l'occasion de l'injection d'ocytocine. Des réactions anaphylactiques aux antibiotiques ont également été rapportées lors du lâchage de garrot au décours d'interventions de chirurgie orthopédique(Laxenaire, Mouton et al. 1996).

IV.1.Manifestations cutanéo-muqueuses

Les signes cutanéo-muqueux peuvent manquer, en particulier lors des réactions sévères, s'il existe d'emblée un état de choc avec collapsus cardio-vasculaire (Mertes, Alla et al. 2011). Leur présence n'est pas indispensable au diagnostic.

Ce sont souvent les premiers signes d'appel. Ils intéressent initialement des régions les plus riches en mastocytes (face, cou, région antérieure du thorax) puis se généralisent rapidement.

Ils peuvent être précédés par des prodromes comme une sensation de démangeaisons, de brûlures, de picotements, de piqûres d'aiguilles et être signalées par un patient non encore endormi. L'atteinte tégumentaire se complète d'éruptions variées : érythème "rouge homard", éruption maculo-papuleuse.

L'œdème de Quincke ou angio-œdème est visible dès que les couches profondes de la peau sont infiltrées. Il peut concerner le larynx, source chez le sujet éveillé de dysphonie et de gêne respiratoire, et le pharynx entraînant une dysphagie. En dehors de la localisation faciale classique, il peut atteindre la langue, les voies aériennes, les mains, et se généraliser. Il apparaît toujours après l'érythème et n'est parfois visible qu'au réveil, au niveau des paupières et des lèvres.

Des signes accessoires peuvent également être observés : larmoiements avec hyperémie conjonctivale, érection mamelonaire, horripilation.

IV.2.Signes respiratoires

Ils sont présents dans environ 40 % des cas (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2011). L'infiltration œdémateuse de la muqueuse et la bronchoconstriction des fibres musculaires lisses peut engendrer une obstruction respiratoire à différents niveaux.

Elle peut intéresser les voies aériennes supérieures, entraînant une rhinorrhée, une obstruction nasale, une toux sèche, une obstruction des voies aériennes supérieures par un œdème lingual, du palais mou, de l'oropharynx, de l'hypopharynx, de l'épiglotte, ou du larynx.

Les signes respiratoires peuvent également intéresser les voies aériennes inférieures, avec un bronchospasme particulièrement fréquent chez les sujets asthmatiques ou ayant une hyperréactivité bronchique. Le bronchospasme peut prendre des masques différents selon son moment de survenue. A l'induction, si l'intubation n'est pas encore réalisée, il se manifeste habituellement par une toux sèche associée à une tachypnée rapidement suffocante, la ventilation assistée au masque peut être difficile voire impossible, conduisant à une cyanose rapide. Lorsque l'incident survient chez le patient déjà intubé ou au moment de l'intubation, une difficulté de ventilation peut être observée, pouvant aller jusqu'à un obstacle complet à l'insufflation manuelle. Le diagnostic peut être retardé, le premier réflexe de l'anesthésiste étant de rechercher une erreur technique (intubation dans l'œsophage, obstruction de sonde, hernie du ballonnet, erreur de branchement...). Lorsque la réaction se produit après l'induction, sous assistance ventilatoire, l'attention est attirée par une désadaptation complète du malade au respirateur et l'existence d'une élévation des pressions d'insufflation reflétant la majoration des résistances bronchiques. Le bronchospasme est parfois rebelle au traitement classique conduisant à une hypoxémie et une hypercapnie et finalement à un arrêt cardiaque anoxique.

Un tableau d'œdème aigu du poumon peut également être observé, secondaire à des troubles de la perméabilité capillaire, ou plus rarement à une dysfonction myocardique.

IV.3. Signes cardiovasculaires

Le collapsus cardiovasculaire confère souvent un caractère dramatique au choc anaphylactique. Il coïncide fréquemment avec le premier signe clinique observé, et peut correspondre au seul signe clinique détecté (Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2011). La description classique du choc anaphylactique non traité correspond à celle d'un choc distributif se déroulant en trois phases. Un choc hyperkinétique initial associe, dans les

premières minutes, une tachycardie et un effondrement des résistances vasculaires systémiques en raison de la vasodilatation habituellement limitée au secteur artériolaire pré-capillaire. A ce stade de baisse isolée de la post-charge, et en dépit de la stase capillaire splénique, les pressions de remplissages ventriculaires sont inchangées, le volume d'éjection systolique augmenté, ainsi que le débit cardiaque. Dans un second temps, la vasodilatation s'étend au secteur veineux capacitif, conduisant à un effondrement du retour veineux et à une diminution des pressions de remplissages ventriculaires droite et gauche pouvant s'accompagner d'un arrêt cardiaque. Lorsque le choc anaphylactique se prolonge au-delà de quelques minutes ou de quelques heures, le tableau hémodynamique devient celui d'un choc hypokinétique hypovolémique secondaire à l'extravasation plasmatique transcapillaire. Le profil hémodynamique associe alors des pressions de remplissage ventriculaire droite et gauche basses, un bas débit cardiaque et des résistances vasculaires systémiques élevées.

Certaines études expérimentales récentes démontrent cependant que la physiopathologie du choc anaphylactique est beaucoup plus complexe qu'initialement supposée. Ainsi, une diminution profonde de la perfusion des territoires « adaptatifs » musculo-squelettiques associée à une diminution rapide de la production énergétique cellulaire est observée en l'absence de traitement (Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005). Une vasoconstriction veineuse rapide dans les territoires veineux porte(Shibamoto, Cui et al. 2005; Karasawa, Shibamoto et al. 2007; Liu, Takano et al. 2007; Cui, Shibamoto et al. 2008) et pulmonaire(Miyahara, Shibamoto et al. 1997; Mink, Becker et al. 1998; Zhang, Shibamoto et al. 2011) pourrait être à l'origine d'une baisse rapide des pressions de remplissage droites et gauches responsable d'une diminution rapide du débit cardiaque(Mitsuhata, Hasome et al. 1995). Une atteinte cardiaque initiale pourrait être responsable de formes cliniques particulièrement graves (Correa, Mink et al. 1991). La richesse et les propriétés particulières des mastocytes cardiaques pourraient expliquer ces manifestations (Genovese, Rossi et al. 2010). Cependant, l'existence d'une atteinte myocardique primitive demeure un sujet de controverse, ces manifestations particulièrement graves pouvant également être liées à l'existence d'une cardiopathie préexistante et/ou du traitement institué, en particulier de l'injection d'amines vasopressives.

Des troubles de l'excitabilité et de la conduction tels que : bradycardie, bloc auriculo-ventriculaire, bloc de branche, extrasystolie et fibrillation ventriculaire ont été décrits. Des manifestations évocatrices d'une ischémie myocardique à type de modifications du segment ST ou une nécrose myocardique ont également été observées. Les anomalies rythmologiques

peuvent faire évoluer le choc vers une inefficacité cardio-circulatoire. L'arrêt cardiaque n'est pas exceptionnel et survient parfois d'emblée en l'absence de bronchospasme et de signes cutanés associés(Laxenaire, Mertes et al. 2001; Mertes, Alla et al. 2011). Il peut également compliquer un choc prolongé ou une anoxie sévère secondaire à un bronchospasme ou à une obstruction œdémateuse des voies aériennes supérieures.

IV.4. Autres signes

Des signes digestifs sont parfois observés. Ils sont liés à la contraction des muscles intestinaux et à l'hypersécrétion. Il peut s'agir d'une hypersialorrhée, de nausées, de vomissements, de diarrhées, ou de douleurs abdominales, ne s'extériorisant parfois qu'au réveil.

Des manifestations neurologiques peu spécifiques résultant souvent d'une anoxie cérébrale peuvent être observées. Il s'agit de céphalée violente, de perte de connaissance, de convulsion, d'incontinence sphinctérienne, de syndrome pyramidal bilatéral. Un retard de réveil est souvent signalé, sans rapport avec les doses de produits anesthésiques injectés. Le coma anoxique prolongé avec séquelles graves, voire décès, reste exceptionnel.

IV.5.Evolution

La symptomatologie clinique est parfois paucisymptomatique(Mertes, Dewachter et al. 2003) . Ainsi, une réaction anaphylactique peut se résumer à un seul signe clinique (bronchospasme, tachycardie et effondrement tensionnel), induisant une méconnaissance du diagnostic (Malinovsky, Decagny et al. 2008; Mertes, Tajima et al. 2010). Dans les formes peu sévères, l'évolution peut s'avérer favorable en dehors de tout traitement spécifique. Cependant, il faut garder à l'esprit que dans de telles circonstances, l'absence de diagnostics et de bilans allergologiques appropriés peut conduire à une réexposition ultérieure potentiellement létale. A l'inverse, l'apparition d'une réaction de grade 3 impose, chaque fois que cela est possible, l'arrêt de l'anesthésie et le report de l'intervention.

Sous l'influence d'un traitement adapté et rapidement institué, l'évolution est le plus souvent favorable en quelques dizaines de minutes (Mertes, Tajima et al. 2010). L'érythème, le bronchospasme et l'hypotension sont les signes régressant en premier. La tachycardie et l'œdème facial peuvent persister quelques heures. Dans certains cas, notamment lors de

réactions induites par des colorants utilisés dans le cadre du repérage de ganglion sentinelles, l'hypotension peut être prolongée, nécessitant parfois de poursuivre le traitement durant plusieurs heures(Mertes, Malinovsky et al. 2008).

L'existence d'un traitement chronique par β bloquants est un facteur de risque particulier pouvant expliquer l'absence de tachycardie ou la résistance à l'adrénaline.

Bien qu'il soit classiquement décrit une évolution par vagues du choc anaphylactique, cela est rarement constaté en anesthésie, en dehors des réactions induites par les colorants. Il s'agit plutôt de résistance au traitement ou de rechute lorsque l'on allège le débit des catécholamines. Ces risques imposent une surveillance de 24h en soins intensifs des réactions sévères, même si les patients présentent une rémission de leur symptomatologie(sfar 2001; Sfar 2011).

Des complications liées à des chocs prolongés et à l'anoxie sont parfois observées : choc cardiogénique, syndrome de détresse respiratoire, insuffisances hépatique et rénale, syndrome hémorragique, coma végétatif. L'évolution reste mortelle dans 2 à 8 % des cas (Mitsuhata, Matsumoto et al. 1992; Currie, Webb et al. 1993; Axon and Hunter 2004).

V. Diagnostique des réactions d'hypersensibilité immédiates

Tout patient présentant une réaction anaphylactique doit bénéficier aussi d'un bilan biologique immédiat et d'un bilan secondaire destinés à faire la preuve du mécanisme immunologique éventuel de l'accident, à identifier l'agent causal, et à rechercher l'existence éventuelle d'une sensibilisation croisée dans le cas d'une anaphylaxie à un curare (Raper and Fisher 1988).

V.1.Bilan immédiat

Le diagnostic de choc anaphylactique est un diagnostic clinique imposant une prise en charge thérapeutique immédiate. Il repose sur la mesure des taux circulants des marqueurs de dégranulation des basophiles et des mastocytes (tryptase et histamine) destinée à confirmer la réalité de la réaction d'hypersensibilité immédiate et d'en identifier le mécanisme. Dans

certaines situations, il inclut également le dosage d'IgE spécifiques destinée à identifier l'agent causal (Mertes, Laxenaire et al. 2005). Les prélèvements sanguins doivent être réalisés sur un tube sec (7 ml) et un tube EDTA (7 ml) dès que la situation clinique est maîtrisée, idéalement dans l'heure qui suit le début des signes. Les tubes doivent être transmis au laboratoire dans les 2 heures, afin de permettre le recueil du sérum et du plasma. En cas d'impossibilité, ils peuvent être conservés au réfrigérateur à + 4°C pendant 12 heures au maximum.

V.1.1.Tryptase

La tryptaseβ, libérée par les mastocytes activés, est mesurée par méthode immunoradiométrique (Unicap, Phadia, Uppsala Suède). Les valeurs normales sont habituellement inférieures à 12 µg.L-1. Le pic sérique est habituellement obtenu en 1 à 2 heures après le début de la réaction (Laroche, Dubois et al. 1992; Laroche, Lefrancois et al. 1992). Cependant, en raison de sa demi-vie d'élimination supérieure à celle de l'histamine, un taux élevé de tryptase peut parfois être détecté durant 6h ou plus après le début du choc anaphylactique. Bien que des taux élevés de tryptase puissent être observés dans différentes circonstances, un taux sérique >25 µg.L-1 est un puissant argument en faveur d'une réaction anaphylactique (Watkins and Wild 1993; Mertes, Alla et al. 2003). Toutefois, un test négatif n'élimine pas de façon formelle le diagnostic. En effet, l'élévation du taux sérique de tryptase peut être faible, voire absente en cas d'accident anaphylactique de faible gravité. Son dosage post-mortem, bien que discuté est également possible (Fisher and Baldo 1993; Pumphrey 2000), mais doit être réalisé préférentiellement avant l'arrêt des manœuvres de réanimation.

V.1.2.Histamine

L'augmentation de la concentration d'histamine plasmatique confirme l'histaminolibération in vivo (Laroche, Vergnaud et al. 1991). Le dosage de l'histamine est réalisé à l'aide d'une technique radioimmunologique (RIA histamine, Immunotech, Luminy France), (seuil de positivité 9 nmol.L-1). Dans les formes graves, ce dosage peut être réalisé dans l'heure suivant le début de la réaction suspecte, mais dans les formes les moins sévères, seuls des dosages très précoces, dans les 15 minutes suivant le début de la réaction pourront être augmentés (Laroche, Dubois et al. 1995). L'association des dosages d'histamine et de tryptase augmente la sensibilité diagnostique.

Deux situations cliniques sont associées à des faux négatifs du fait d'un métabolisme de l'histamine anormalement rapide. Il s'agit de la grossesse, en raison de la synthèse, par le placenta, de diamine oxydase en quantité 1000 fois supérieure à la normale à partir du 2ème trimestre de gestation, et des patients qui reçoivent de l'héparine à forte dose, chez qui la diamine-oxydase est augmentée proportionnellement à la dose d'héparine reçue.

V.1.3.IgE spécifiques

La mise en évidence d'IgE spécifiques de certains allergènes tels que le latex, certains antibiotiques et agents d'anesthésie (curares, thiopental) par des dosages radioimmunologiques (technique du RAST : Radio AllergoSorbent Test) et plus récemment en « froid » permet de confirmer le mécanisme immunologique de la réaction et d'identifier l'agent responsable (Mertes, Laxenaire et al. 2005). Son utilisation repose sur l'hypothèse que le taux circulant d'anticorps reflète la présence d'IgE spécifiques liées à la surface des basophiles et des mastocytes. Bien que classiquement réalisé à distance de la réaction, ce dosage peut être réalisé lors du bilan biologique immédiat (Laroche, Dubois et al. 1992; Laroche, Lefrancois et al. 1992; Guttormsen, Johansson et al. 2007). Lorsqu'il est réalisé précocement, le dosage permet de confirmer la présence d'IgE spécifiques de l'allergène incriminé au moment de la réaction. Il peut également constituer une aide au diagnostic chez les patients chez qui les tests cutanés ne pourront être pratiqués ou interprétés.

La combinaison des dosages des marqueurs de la dégranulation cellulaire (histamine, tryptase) et des anticorps spécifiques possède une sensibilité diagnostique de 87% et une spécificité de 93.3% si les tests cutanés sont pris comme référence diagnostique pour les chocs survenant à l'induction de l'anesthésie (Mertes, Alla et al. 2003; Mertes and Laxenaire 2004).

V.2. Bilan secondaire

Le recueil des constatations cliniques demeure une source d'informations primordiales en matière d'investigations d'une réaction anaphylactique, en particulier pour guider la réalisation du bilan secondaire. L'ensemble des médicaments et substances administrés durant la période péri-opératoire, ainsi que le moment de leurs administrations par rapport à la réaction doivent être consignés. Les informations concernant les comorbidités et les antécédents du patient sont à préciser.

V.2.1. Tests cutanés

Les intradermo-réactions et les pricks tests sont à réaliser idéalement 4 à 6 semaines après la réaction. En cas de nécessité, ils peuvent être pratiqués plus précocement, mais s'ils sont négatifs, ils ne pourront pas être retenus. En cas d'anaphylaxie aux curares, la reproductibilité des tests cutanés est bonne, et ils peuvent demeurer positifs durant des années (Leynadier, Calinaux et al. 1989; Fisher and Baldo 1992; Moneret-Vautrin and Kanny 2002). Ces tests cutanés doivent être pratiqués par un professionnel expérimenté dans leur réalisation et leur interprétation en fonction des signes cliniques. Les traitements connus pour diminuer la réactivité cutanée, tels que les anti-histaminiques doivent être interrompus une semaine à l'avance. Les pricks tests et les intradermo-réactions sont réalisés avec des dilutions des préparations commerciales. La réalisation technique et les dilutions seuil adaptées aux médicaments anesthésiques ont été standardisées, afin d'éviter les faux positifs liés aux propriétés histamino-libératrices directes de certaines substances (Sfar 2011). L'interprétation des tests cutanés tient compte des contrôles négatif (sérum salé) et positif (codéine ou histamine), témoins de la normalité de la réactivité cutanée. Les produits à tester sont ceux qui ont été administrés quelques minutes avant la réaction, et le latex. A priori, toute substance administrée au cours de la période périopératoire doit être considérée comme potentiellement responsable. De plus, si un curare a été administré, tous les autres curares commercialisés doivent également être testés. Cette stratégie permettra d'établir des recommandations sur le choix des curares pour les anesthésies futures.

Si la technique par prick-tests est suffisante pour le diagnostic d'une sensibilisation à un curare, il faut utiliser la technique des intradermo-réactions pour rechercher la réactivité croisée avec les autres curares. La sensibilisation au latex est détectée uniquement par prick tests. La sensibilité de ces tests est légèrement supérieure à celle du dosage des IgE spécifiques.

V.2.2. Autres tests

La recherche des IgE spécifiques peut être réalisée à distance si celle-ci n'a pas été faite au moment de la réaction, ou si le résultat a été négatif. En effet, au moment de la réaction anaphylactique, les IgE circulantes ont pu être consommées, expliquant la possibilité d'un résultat négatif.

D'autres tests ont été proposés. Le test d'histamino-libération leucocytaire possède une sensibilité de 71 % pour l'étude de la réaction d'histamino-libération induite par les curares (Mata, Gueant et al. 1992). Combiné aux tests cutanés et aux dosages des IgE spécifiques, il

permet la détection d'une sensibilisation dans la plupart des cas. Il s'agit cependant d'un test coûteux et de réalisation délicate, qui n'est pas recommandé en première intention. Il peut cependant présenter un intérêt dans la recherche d'une réaction induite par des médicaments lorsque le dosage d'IgE spécifiques n'est pas disponible, ou encore dans l'étude de la réactivité croisée à différents curares en vue d'une future anesthésie chez un patient sensibilisé.

L'étude de l'activation des basophiles en cytométrie en flux connait un intérêt croissant (Abuaf, Rajoely et al. 1999; Monneret, Dumenil et al. 1999; Boumiza, Debard et al. 2005; Ebo, Sainte-Laudy et al. 2006; de Weck, Sanz et al. 2008; Sainte-Laudy and Touraine 2009; Sanz, Gamboa et al. 2009). Il s'agit d'un test d'activation cellulaire qui repose sur les variations de l'expression du CD63 ou du CD203c membranaire lors de l'activation des basophiles en présence de l'allergène suspect(Boumiza, Monneret et al. 2003; Sudheer, Hall et al. 2005). Ces tests peuvent s'avérer utile en cas de réactions sévères et de forte suspicion clinique alors que le bilan allergologique s'avère négatif. Ils peuvent également être utiles lorsque les tests cutanés sont difficilement interprétables (dermographisme, sujet très âgé ou très jeune, atopiques avec lésions cutanées étendues, médicaments histaminolibérateurs). En cas de réaction d'hypersensibilité immédiate allergique à un curare, les tests cellulaires peuvent confirmer le choix d'un curare pour lequel les tests cutanés ont été négatifs. Enfin ils ont également été proposés pour le diagnostic de l'hypersensibilité aux AINS. D'autres dosages tels que celui de la sérotonine, de la protéine cationique de l'éosinophile, ou du LTC4 ont également été proposés mais ne sont pas actuellement recommandés en pratique clinique.

V.2.3. Tests de provocation

L'information du patient sur leurs déroulements et leurs risques est indispensable pour obtenir un consentement éclairé. La remise d'un document d'information est souhaitable. Son utilisation est essentiellement limitée à la recherche aux anesthésiques locaux, aux antibiotiques et plus rarement au latex. Ces indications relèvent d'un avis spécialisé. Sa réalisation impose la vérification au préalable de la négativité des tests cutanés.

En cas de forte suspicion clinique et de tests cutanés négatifs, un test de provocation au latex peut être réalisé par le port d'un gant riche en latex sur une main comparé au port d'un gant de vinyle sur l'autre main, durant 15 minutes. Ce test est considéré comme négatif en l'absence de symptomatologie locale 30 minutes après le port des gants (Sfar 2011).

Les anesthésiques locaux peuvent être testés par l'injection sous cutanée de 0,5 à 1 ml de la solution diluée sans adrénaline. Le test est considéré comme négatif en l'absence de réaction adverse après 30 minutes. Compte tenu de la faible prévalence de la sensibilisation aux anesthésiques locaux et du rapport bénéfice risque en faveur de l'anesthésie péridurale comparée à l'anesthésie générale, la réalisation d'un test de provocation peut être envisagée au moment de l'accouchement, en l'absence de tests cutanés. Ceci n'est envisageable que si l'histoire clinique ayant conduit à suspecter une sensibilisation aux anesthésiques locaux est peu évocatrice, et si la réaction ne présentait pas de caractère de gravité. La réalisation préalable de tests cutanés reste cependant éminemment préférable (Sfar 2011).

VI.Traitement

VI.1.Traitement actuel

La sévérité des manifestations cliniques, et l'efficacité des mesures thérapeutiques peuvent varier de manière très importante d'une situation à l'autre. En l'absence d'étude clinique randomisée, les principes du traitement du choc anaphylactique reposent essentiellement sur des avis d'experts (Brown 2005; Mertes, Laxenaire et al. 2005; Sampson, Munoz-Furlong et al. 2006; Sheikh, Shehata et al. 2008). En conséquence, la pertinence des choix thérapeutiques lors de la survenue d'une réaction anaphylactique repose sur le jugement du clinicien qui doit tenir compte des manifestations cliniques et des options diagnostiques et thérapeutiques disponibles. Le traitement de l'anaphylaxie a pour objectif d'interrompre l'exposition du sujet à l'allergène incriminé, de minimiser les effets induits par les médiateurs libérés et d'en inhiber la production et la libération. Le but du traitement est le rétablissement rapide des fonctions vitales perturbées par le choc anaphylactique. Les complications d'organes intéressent surtout le cerveau, le cœur et le rein. Tout retard de la mise en route d'une thérapeutique adaptée est préjudiciable au patient.

VI.1.1. Mesures générales

L'administration du médicament ou du produit suspect doit être interrompue. L'équipe chirurgicale doit être informée et la procédure opératoire chirurgicale interrompue chaque fois que possible. Les formes graves, une intubation précoce, si elle n'est pas déjà réalisée, doit

être envisagée en raison du risque de survenue d'un œdème pharyngolaryngé. Le recours à une administration d'oxygène pur doit être systématique. La mise en place d'un accès veineux permettant une perfusion à débit élevé et le monitorage de l'électrocardiogramme et de la pression artérielle doivent être institués s'ils ne sont pas déjà mis en place. Le patient doit être allongé et les membres supérieurs surélevés. Ces mesures doivent être appliquées dans tous les cas. Elles peuvent être suffisantes dans les réactions anaphylactiques de grade I.

VI.1.2. Réactions anaphylactiques de grade II et III

L'adrénaline est le produit de choix [3]. En première intention, associée au remplissage vasculaire, l'adrénaline s'oppose aux effets délétères des médiateurs libérés au cours de la réaction anaphylactique par ses propriétés vasoconstrictrices (agoniste α1), inotrope positive (agoniste β1) et bronchodilatatrice (agoniste β2). Elle permet également de diminuer la libération des médiateurs par les mastocytes et les basophiles.

L'administration est réalisée par bolus à doses titrées en fonction de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, afin d'éviter l'apparition de troubles du rythme en cas de doses trop fortes d'emblée (réaction de grade II : 10 à 20 µg, réaction de grade III : 100 à 200 µg). La tachycardie ne contre-indique pas l'utilisation d'adrénaline. L'administration est à renouveler toutes les une à deux minutes jusqu'à rétablissement de la situation clinique, à savoir : restauration d'une pression artérielle moyenne suffisante (60 mm Hg), régression du bronchospasme, stabilisation et/ou régression de l'angioedème. Les doses doivent être augmentées rapidement en cas d'inefficacité.

Une perfusion intraveineuse à la dose de 0,05 à 0,1 $\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$, titrée en fonction de la réponse clinique, peut éviter d'avoir à répéter les bolus d'adrénaline. En l'absence de voie veineuse efficace, la voie intramusculaire peut être utilisée (0,3 à 0,5 mg), à répéter après 5 à 10 min, en fonction des effets hémodynamiques. Dans les mêmes circonstances, la voie intratrachéale peut être utilisée chez le patient intubé, en sachant que seul un tiers de la dose parvient dans la circulation systémique.

Un remplissage vasculaire rapide doit être associé à la prescription d'amine vasopressive. Le remplissage doit être institué sans délai, pendant la préparation de l'adrénaline. Il consiste en la perfusion rapide de cristalloïdes (10 à 25 $ml.kg^{-1}$) en 20 minutes, répétée si besoin. Le recours à des colloïdes en évitant les produits suspects d'être à l'origine

de l'accident doit être envisagé lorsque la perfusion de cristalloïdes dépasse 30 ml.kg-1. Une augmentation du retour veineux et de la précharge ventriculaire gauche peut également être obtenue par la mise du patient en position de Trendelenburg et par la surélévation des membres inférieurs(Mertes and Laxenaire 2004; Mertes, Laxenaire et al. 2005).

Le bronchospasme régresse habituellement à la faveur de l'injection d'adrénaline. Cependant, en cas de bronchospasme persistant, ou survenant en l'absence d'hypotension artérielle, l'administration d'agonistes béta-2-adrénergique (type Salbutamol) à l'aide d'une chambre d'inhalation adaptée au circuit de ventilation est recommandée (type Aerovent, Peters). En cas de résistance au traitement ou de forme d'emblée sévère, l'administration intraveineuse d'un bolus de salbutamol (100 à 200 µg.kg-1) suivie d'une perfusion continue à raison de 5 à 25 g.min-1doit être instituée. Le recours à la voie veineuse peut également être envisagé chez les patients non intubés ou en l'absence de chambre d'inhalation.

D'autres médicaments peuvent être proposés dans certaines situations cliniques. En cas d'hypotension réfractaire à de fortes doses d'adrénaline, divers autres médicaments vasoconstricteurs ont été proposés, notamment la noradrénaline (à partir de 0,1 µg.kg-1.min-1). L'utilisation de la vasopressine a récemment été proposée dans certaines situations de chocs réfractaires à l'adrénaline en clinique humaine (Schummer, Wirsing et al. 2008). Son intérêt et les modalités pratiques de son utilisation restent à définir (Dunser, Torgersen et al. 2008). Ce produit n'étant pas commercialisé en France, le recours à une administration de son analogue la terlipressine® a été proposé(Rocq, Favier et al. 2007). Le recours à une assistance circulatoire a été proposé dans certains cas (Raper and Fisher 1988) .

Chez certains patients traités par bétabloquants, il peut s'avérer nécessaire d'augmenter les doses d'adrénaline (bolus initial 100 microgrammes), suivies en cas d'inefficacité d'injection de 1 milligramme voire 5 milligrammes toutes les 1 à 2 minutes. En cas d'inefficacité, l'administration de glucagon doit être envisagée (dose initiale 1 à 2,5 mg) suivie d'une perfusion à la dose de 2,5 mg.H-1 (Lee 1982; Compton 1997).

Chez la femme enceinte, Il faut utiliser l'adrénaline selon les mêmes modalités (séquence, voie d'administration, doses) qu'en dehors de la grossesse. Il est également possible d'utiliser les solutés de type hydroxyéthylamidon pour le remplissage vasculaire.

VI.1.3. Réactions anaphylactiques de grade IV

Les mesures habituelles de réanimation d'une inefficacité circulatoire doivent être appliquées selon les recommandations de la SFAR (www.sfar.org/confacr.html). Elles comprennent l'institution d'un massage cardiaque externe et l'administration d'adrénaline en bolus intraveineux à la dose d'un milligramme toutes les 1 à 2 minutes, les doses étant répétées en cas d'une inefficacité.

VI.2.Problématique actuelle : Adrénaline et traitements alternatifs

L'hypotension artérielle réfractaire au traitement correspond à une pression artérielle moyenne inférieure à 60mmHg malgré des injections répétées d'adrénaline et une correction de la volémie. Le but thérapeutique est d'obtenir une pression artérielle moyenne d'au moins 60 mmHg. Mais l'adrénaline n'est pas toujours efficace. Il existe de nombreux cas cliniques publiés de choc anaphylactiques réfractaires à l'adrénaline ayant poussé les cliniciens à l'administration de drogues de « sauvetage ».

Quand l'adrénaline doit-elle être déclarée inefficace ? Les doses cumulées d'adrénaline considérées comme inefficaces dans la littérature, ayant provoqué le recours à d'autres traitements, sont très variables. Des doses cumulées aussi faibles que 1 mg (dans un contexte de perfusion continu de noradrénaline) et 2 mg (sans autre vasopresseur) d'adrénaline ont dans certains cas suffi pour affirmer son inefficacité (Green and Ball 2005; Schummer, Wirsing et al. 2008). Cependant, les auteurs des recommandations françaises pour la prise en charge du choc anaphylactique survenant en cours d'anesthésie considèrent que des doses cumulées entre 5 et 10 mg sont plus raisonnables avant de déclarer l'adrénaline inefficace (Longrois, Lejus et al. 2011).

Il existe des facteurs qui favorise l'inefficacité de l'adrénaline: le traitement chronique par β-bloquants, l'administration tardive de l'adrénaline, désensibilisation des récepteurs adrénergiques ou des médiateurs d'anaphylaxie. En effet, l'administration tardive de l'adrénaline est associée à un pronostique défavorable (Sampson, Mendelson et al. 1992; Pumphrey 2000). Par ailleurs, il existe une régulation du nombre des récepteurs adrénergiques fonctionnels. La diminution de la réponse, appelée désensibilisation, survient lors d'une stimulation importante et/ou prolongée par les catécholamines et concerne plus

particulièrement les récepteurs béta. Elle implique une phosphorylation, une internalisation et enfin une diminution du nombre des récepteurs. En plus, le NO peut être impliqué les mécanismes du choc anaphylactique réfractaire.

En cas d'inefficacité de l'adrénaline, plusieurs traitements alternatifs ont été proposés dans des cas cliniques publiés :

- Le glucagon, surtout en cas de traitement par β-bloquants. Il supprime l'effet des antagonistes des réceteurs β-adrénergiques en provoquant l'activation de l'adénylylcyclase (Thomas and Crawford 2005).
- Les autres agonistes α-adrénergiques : noradrénaline, phényléphrine et métaraminol (Heytman and Rainbird 2004; Green and Ball 2005).
- La vasopressine : l'action de la vasopressine n'est pas dépendant des récepteurs adrénergiques et il peut renverser de la régulation négative des désensibilisations des récepteurs adrénergiques(Hamu, Kanmura et al. 1999). Quelques publications récentes rapportent le succès thérapeutique d'anaphylaxie per-opératoire ou après piqûre d'hyménoptères à l'aide de bolus i.v d'arginine vasopressine (AVP) alors que l'adrénaline seule ou associée à la noradrénaline ou la phényléphrine seule n'avaient pas permis de corriger l'hypotension artérielle ou le collapsus cardio-vasculaire. Dans un modèle murin de choc anaphylactique per-anesthésique, l'AVP a un effet dos-réponse sur la pression artérielle. Ces résultats corroborent les succès thérapeutiques rapportés avec l'AVP.
- La terlipressine : son utilisation est proposée dans les recommandations françaises en lieu et place de l'AVP, en l'absence de commercialisation de cette dernière en France. En raison de la plus longue demi-vie de la terlipressine par rapport à l'AVP, le traitement consiste en une dose unique de 2 mg en bolus (Kam, Williams et al. 2004; Rocq, Favier et al. 2007; Longrois, Lejus et al. 2011).
- Le bleu de méthylène. Il inhibe l'activation de la guanylate cyclase provoquée par le NO responsable du collapsus cardiovasculaire. Il s'est révélé efficace dans plusieurs cas cliniques de choc anaphylactique (Rodrigues, Pazin Filho et al. 2007; Weissgerber 2008; Del Duca, Sheth et al. 2009). Cependant, on trouve également plusieurs cas de choc anaphylactiques provoqués par

l'injection de bleu de méthylène ou de produits sanguin traités au bleu de méthylène (Dewachter, Mouton-Faivre et al. 2005; Dewachter, Castro et al. 2011; Nubret, Delhoume et al. 2011).

- Les agonistes de l'angiotensine II (angiotensinamide, non disponible en France), utilisés dans un unique cas de choc anaphylactique réfractaire (McKinnon and Sinclair 1994).

Il est important de souligner que dans la majorité des études rapportant l'efficacité d'un traitement alternatif à l'adrénaline, ce traitement a en fait été associé à des doses d'adrénaline. Ces études témoignent donc de l'efficacité conjointe du traitement cité et de l'adrénaline.

TRAVAIL EXPERIMENTAL

I. Physiopathologie systémique et régionale (muscle squelettique, cerveau et système respiratoire)

I.1. Physiopathologie systémique

Le choc anaphylactique est l'expression clinique la plus sévère des réactions d'HSI. Dans sa description classique, ce choc évolue en trois phases successives. Dans un premier temps, on observe une baisse de la post-charge, avec diminution des résistances vasculaires systémiques. Les pressions de remplissage ventriculaire restent inchangées, et le débit cardiaque augmente du fait de l'apparition d'une tachycardie. Ceci correspond au tableau d'un choc hyperkinétique. Sans traitement adapté, la vasodilatation s'étend au secteur veineux capacitif et conduit à un effondrement du retour veineux et à une diminution du débit cardiaque, malgré l'augmentation de la fraction d'éjection ventriculaire. À ce stade, toute augmentation de la pression intra-thoracique (ventilation artificielle) peut aggraver la baisse du débit cardiaque, et induire un arrêt par désamorçage du cœur. La fraction du débit cardiaque destinée aux organes les mieux perfusés serait augmentée, et ces circulations seraient préservées (Kapin and Ferguson 1985). Puis apparaît un tableau de choc hypovolémique hypokinétique (avec diminution des pressions de remplissage ventriculaires, effondrement du débit cardiaque et des résistances vasculaires systémiques élevées), secondaire à l'extravasation plasmatique trans-capillaire.

Cette description est confrontée à une réalité clinique plus complexe liée à la variabilité interindividuelle et à des atteintes spécifiques d'organes au cours de certaines formes de choc anaphylactique, comme cela a pu être démontré sur quelques observations de la phase précoce du choc chez des sujets bénéficiant d'une surveillance hémodynamique(Beaupre, Roizen et al. 1984; Nicolas, Villers et al. 1984; Silverman, Van Hook et al. 1984)

Une atteinte primitive du cœur, qualifiée d'anaphylaxie cardiaque, a été évoquée devant des arrêts cardiaques inauguraux attribués pour certains à des spasmes coronaires avec ou sans nécrose myocardique (Wagdi, Mehan et al. 1994). Dans un modèle canin, une étude a montré l'existence d'une diminution de la contractilité ventriculaire gauche au cours du choc anaphylactique (Correa, Mink et al. 1991). Cette dernière était associée à une vasodilatation et non une vasoconstriction coronaire et on ne retrouvait pas de signe d'ischémie myocardique,

ce qui suggère un effet dépresseur propre des médiateurs de l'anaphylaxie sur le myocarde. Chez l'homme, l'existence d'une baisse de la contractilité cardiaque reste controversée et dépend vraisemblablement de la gravité de la présentation clinique.

La réponse des différents territoires vasculaires est probablement bien plus hétérogène que le modèle classique ne le laisse entendre. En effet, il a été montré dans plusieurs modèles animaux que les territoires pulmonaires et splanchniques subissaient une vasoconstriction au cours du choc anaphylactique. Chez la souris, le rat et le lapin, la vasoconstriction des vaisseaux hépatiques présinusoïdaux est à l'origine d'une hypertension portale responsable d'une diminution du retour veineux et du volume sanguin circulant participant, dans ces modèles, à la chute de pression artérielle moyenne (Shibamoto, Cui et al. 2005). Enfin, du fait de l'altération du débit sanguin dans les différents organes, en particulier dans les compartiments « adaptatifs » tels que les muscles squelettiques, et en l'absence d'inhibition de la respiration cellulaire dans ces territoires, la production énergétique repose sur la glycolyse et s'épuise rapidement par défaut de substrat (Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005). En l'absence de thérapeutique adaptée, ce phénomène va aboutir à une évolution accélérée vers la mort cellulaire puis un syndrome de défaillance multiviscérale rendant le choc rapidement réfractaire.

I.2. Conséquences régionales du choc anaphylactique: muscle squelettique, cerveau et poumon

I.2.1 Muscle squelettique

L'organisme s'adapte à l'hypotension et à l'hypoperfusion systémique du choc anaphylactique par une redistribution des débits sanguins régionaux avec par exemple une diminution importante de la perfusion musculaire. Les mécanismes de régulation font intervenir le système nerveux sympathique qui joue un rôle important à plusieurs niveaux (catécholamines circulantes, innervation tissulaire, tonus vasculaire)(Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005).

Le choc anaphylactique est caractérisé par une diminution importante et brutale de la disponibilité en oxygène. Cette diminution de la pression tissulaire en partielle en oxygène musculaire ($mPtio_2$) est semblable en amplitude (mais pas en vitesse d'apparition) à celle

observée dans le choc hémorragique(Niinikoski and Halkola 1977; Zhao, Junker et al. 1985; McKinley and Butler 1999), La chaîne respiratoire mitochondriale restant fonctionnelle, le passage à la glycolyse anaérobie se fait après épuisement de l'oxygène disponible et aboutit après épuisement des substrats (glucose et pyruvate) à l'absence totale de production énergétique cellulaire et à la mort cellulaire.

Cette situation diffère profondément de celle observée dans le choc septique dans lequel la microcirculation plus que la perfusion tissulaire est altérée, en association avec une inhibition de la chaîne respiratoire. La disponibilité en oxygène est conservée, ainsi que la production énergétique mais celle-ci est limitée par le métabolisme anaérobie, l'apport de substrats (glucose et pyruvate) n'étant pas totalement interrompu.

I.2.2. Cerveau

Le cerveau humain a une masse égale à environ 2% de la masse corporelle totale mais il consomme respectivement 20% et 25% de la consommation totale en oxygène et en glucose. D'autre part cet organe n'a pas la capacité de stocker de l'oxygène et les réserves en glycogène sont faibles. Il est donc dépendent des apports sanguins et a besoin d'une perfusion en rapport avec ses besoins. Ainsi, le débit sanguin cérébral global (DSC) est égal à environ 15% du débit cardiaque (soit en valeur absolue et au repos environ 50ml/100g et minute).

Une diminution du DSC a des conséquences fonctionnelles voire lésionnelles. Ainsi lorsque la perfusion devient inférieure au seuil fonctionnel, l'amplitude de l'activité électrique cérébrale corticale spontanée diminue et/ou cette activité se ralentit. Lorsque le DSC décroît davantage, l'activité électrique spontanée disparaît. Enfin, lorsque la perfusion atteint le seuil lésionnel, des lésions d'infarcissement s'installent. Le seuil lésionnel dépend du temps pendant lequel la diminution de débit est appliquée. Le tissu cérébral dont la perfusion se situe entre le seuil fonctionnel et le seuil lésionnel correspond à la <<pénombre ischémique>>. Il peut soit récupérer si la circulation est rétablie soit évoluer vers la nécrose si l'ischémie persiste ou si la demande métabolique excède les apports en nutriments.

Ces considérations démontrent l'importance quantitative et qualitative du DSC. L'adéquation entre la perfusion sanguin et le métabolisme cérébral est donc essentielle surtout lorsque l'homéostasie est perturbée ou lorsqu'il existe une demande métabolique (activation neuronale). Avant d'aborder les phénomènes de régulation, les caractéristiques anatomiques

et histologiques de la circulation cérébrale seront abordées car elles contribuent aux particularités fonctionnelles de cette circulation locale.

I.2.2.1. Les facteurs régulant le DSC

La concentration dans l'espace interstitiel dans ions H+, K+, Ca2+, de l'adénosine et l'osmolarité sont vasoactifs. La réponse des capillaires aux modifications des gaz du sang est le principal facteur du contrôle intrinsèque. Toute modification du débit sanguin provoque des modifications pressions partielles en O2 et en CO2 du sang des capillaires, veinules et veines.

I.2.2.1.1. Capnie

La PaCO2 est un déterminant majeur du débit sanguin cérébral par son effet sur le tonus artériolaire cérébral. En effet, le débit sanguin cérébral varie linéairement avec la PaCO2 chez le sujet sain pour des valeurs de PaCO2 comprises entre 25 et 80 mmHg. Quand la PaCO2 varie d'1 mmHg, le débit sanguin cérébral varie de 1 à 2 ml/100g/min (Brian 1998).

La vasoréactivité cérébrale au CO2 semble en fait être médiée par l'action des ions H+ sur la vascularisation cérébrale, plutôt que par le CO2 lui-même (Iadecola 1992). La vasoréactivité cérébrale au CO2 est donc essentiellement liée au pH extracellulaire. Ainsi, en cas d'hyper ou d'hypocapnie prolongée, le débit sanguin cérébral se normalise en 4 à 6h car le pH cérébral extravasculaire et le pH du LCR se normalisent (Brian 1998).

Les mécanimes de la vasodilatation induite par les ions H+ impliquent le NO ; il a été montré que la vasodilatation induite par l'hypercapnie et l'acidose était atténuée par les inhibiteurs de NO (Iadecola 1992).

I.2.2.1.2. Hypoxie

Seule l'hypoxie sévère (inférieure à 50 mmHg) augmente le DSC par vasodilatation artérielle, le contenu artériel en O2 restant longtemps préservé du fait de la courbe de dissociation de l'hémoglobine (Gupta, Menon et al. 1997). L'hypoxie provoque une ouverture des canaux potassium dépendant de l'ATP ainsi qu'une sécrétion endothéliale de NO, ce qui induit une hyperpolarisation des CML et une relaxation du muscle lisse vasculaire (Ishimura, Kitaguchi et al. 1996).

L'hyperoxie normobare n'a que peu d'effet sur la vasomotricité cérébrale : 50 à 100% d'oxygène inspiré provoque une réduction de 20% du DSC (Watson, Beards et al. 2000).

I.2.2.1.3. Hémodilution

L'hémodilution accroît le débit sanguin cérébral d'environ 2% pour une diminution de 1% de l'hématocrite comprise entre 40 et 30%. Visant à maintenir le transport en O_2 cérébral constant, l'augmentation du DSC est la conséquence de la diminution de la viscosité sanguine et de la diminution du contenu artériel en O_2(Bruder, Cohen et al. 1998).

I.2.2.1.4. Autorégulation cérébrale

L'autorégulation du débit sanguin cérébral est un mécanisme qui permet, à métabolisme cérébral constant, le maintien du débit sanguin cérébral stable face aux variations de pression de perfusion sur une plage de pression artérielle moyenne allant de 60 à 150 mmHg (figure 3)(Powers 1991). En-dehors de la zone d'autorégulation, le flux devient pression-dépendant. Cette régulation est rapide : le délai entre d'évènement déclenchant et la réponse physiologique n'est que de 10 à 60 secondes(Davis and Sundt 1980). L'autorégulation est préservée à des niveaux de pression plus bas lorsque l'hypotension est provoquée par une vasoplégie que lorsqu'elle est due à une hypovolémie(Odden, Farstad et al. 1994; Guo, Tierney et al. 2006) ; le risque cérébral est donc plus élevé dans le deuxième cas. En aval d'une sténose, les vaisseaux sont en vasodilatation maximale pour tenter de maintenir l'apport d'O_2. Plusieurs facteurs interfèrent avec l'autorégulation.

a. L'hypertension artérielle raccourcit la plage de flux constant et la déplace vers le haut et vers la droite; il est capital d'en tenir compte lors de l'anesthésie de patients hypertendus.

b. La sympathectomie chimique ou cervicale déplace la courbe d'autorégulation vers la gauche et augmente la tolérance à l'hypotension(Golanov and Reis 1996).

c. La $PaCO_2$est un puissant régulateur du flux sanguin cérébral (FSC), qui augmente de 2 ml/100gm/min ou 3% pour chaque élévation de 1 mmHg entre 25 et 100 mmHg de $PaCO_2$. En dessous de 25mmHg, la vasoconstriction peut compromettre l'oxygénation

cellulaire, notamment en cas de pathologie intracrânienne. Les effets de l'hypocapnie tendent à s'atténuer avec les heures parce que le bicarbonate extracellulaire baisse avec la normalisation du pH interstitiel.

d. L'ischémie est un vasodilatateur puissant: les vaisseaux de la zone cérébrale en aval d'une sténose sont en vasodilatation maximale et le flux sanguin cérébral y devient pression-dépendant. La réserve hémodynamique y est nulle: le flux sanguin cérébral local ne peut plus augmenter si la pression de perfusion vient à chuter.

e. Les variations des résistances vasculaires ne modifient le flux sanguin cérébral que dans les zones saines; Le NO joue un rôle dans les résistances vasculaires cérébrales (Zanini, Cabrales et al. 2011).

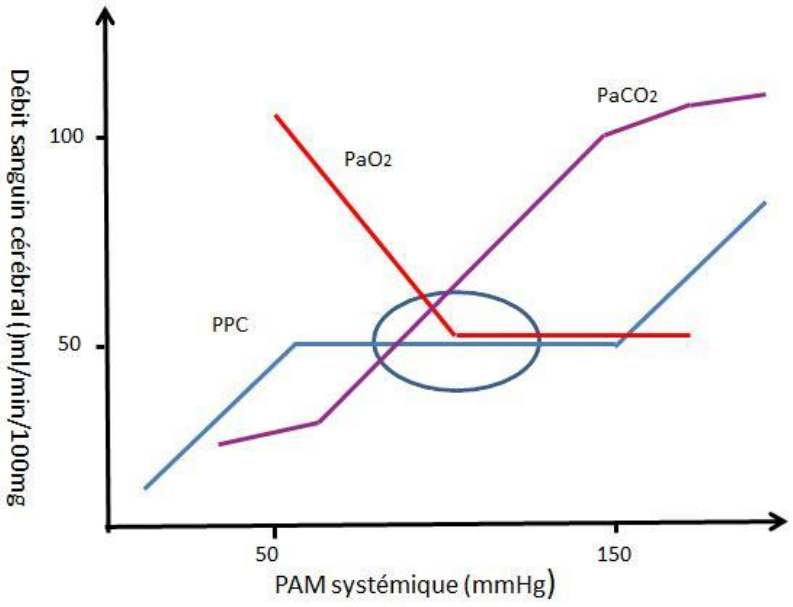


Figure 3 : Autorégulation du débit sanguin cérébral en fonction de la pression artérielle systémique moyenne (PAM), lors d'hypercapnie ($PaCO_2$) et lors d'hypoxie (PaO_2). La pression de perfusion cérébrale (PPC) reste stable sur une large plage d'autorégulation en-dehors de la zone physiologique, pour la normoventilation soit respectée.

I.2.2.2. Rationnel de l'étude :

Le cerveau est incapable de faire des réserves en oxygène et glucose. Il dépend donc pour ces nutriments de l'apport sanguin c'est-à-dire de la circulation cérébrale. Les mécanismes de régulation décrits ci-dessus permettent de maintenir les apports cérébraux en

oxygène et glucose quand le milieu intérieur est perturbé (hypercapnie, hypoxie, variation de pression artérielle).

Le dysfonctionnement du système nerveux central associé à un choc anaphylactique est généralement considérée comme secondaire à une hypotension. Cependant, la réponse du système vasculaire cérébral à l'évolution de la pression artérielle et le débit cardiaque (CO) se distingue des autres territoires vasculaires. En effet, à maintenir une circulation sanguine cérébrale, malgré les changements fréquents de la pression artérielle systémique et de s'adapter en permanence l'approvisionnement en sang à la demande métabolique en cours dicté par l'activité électrique des neurones, le cerveau a développé une multitude de mécanismes d'adaptation. Les mécanismes sont probablement formées au cours de l'évolution pour protéger le système nerveux central de conséquences potentiellement fatales d'états de choc hémorragique et septique ainsi que d'autres blessures telles que l'hypoxie ou manque d'énergie et de substrat sont regroupées sous le terme «autorégulation cérébrale».

La description classique du choc anaphylactique est celle d'un choc distributif, au cours duquel certaines circulations régionales, dont la circulation cérébrale, seraient préservées par une redistribution du débit sanguin. Cependant, la vue classique des conséquences hémodynamiques du choc anaphylactique a récemment été mise en cause par plusieurs travaux, démontrant une chute de la perfusion d'un compartiment adaptatif comme le muscle squelettique combinée à la persistance d'une forte consommation énergétique, provoquant une défaillance rapide et irréversible de la production d'énergie (Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005). Par ailleurs, l'idée classique d'un débit cardiaque initialement conservé a également été remise en question dans certains modèles animaux de choc anaphylactique. Bien que de nombreuses différences puissent exister entre les espèces, la défaillance myocardique a été démontrée dans des modèles de choc anaphylactique létal(Correa, Mink et al. 1991; Mitsuhata, Takeuchi et al. 1995; Chrusch, Sharma et al. 1999), tandis qu'une dépression myocardique moins sévère était observée dans les modèles non-létaux(Hiruta, Mitsuhata et al. 2005). Enfin, il a récemment été montré qu'au cours du choc anaphylactique on pouvait observer une vasoconstriction veineuse des territoires porte et splanchnique ainsi que des veines pulmonaires, participant à une baisse rapide du débit cardiaque par baisse de la précharge (Miyahara, Shibamoto et al. 1997; Shibamoto, Cui et al. 2005; Karasawa, Shibamoto et al. 2007; Liu, Takano et al. 2007; Cui, Shibamoto et al. 2008)

Cependant, lors d'un choc anaphylactique, les conséquences systémiques des altérations hémodynamiques et les effets directs des médiateurs de l'anaphylaxie sur le lit vasculaire cérébral et la perfusion cérébrale restent à déterminer. Comprendre les conséquences du choc anaphylactique sur la perfusion cérébrale peut être d'une importance cruciale dans la délimitation des objectifs optimaux et stratégies thérapeutiques. Nous émettons l'hypothèse que l'AS pourrait altérer l'autorégulation de la perfusion cérébrale. Pour tester cette hypothèse, nous avons mesuré plusieurs déterminants de l'hémodynamique systémique et cérébrale dans un modèle de l'AS induite par ovalbumine (OVA) chez les rats Brown Norway. Ces résultats ont été comparés avec un modèle d'hypotension artérielle pharmacologique d'une ampleur similaire.

I.2.2.3. Publication

ANAPHYLACTIC SHOCK DECREASES CEREBRAL BLOOD FLOW MORE THAN WHAT WOULD BE EXPECTED FROM SEVERE ARTERIAL HYPOTENSION

Julien Davidson[1*] , Feng Zheng[1*] , Keiko Tajima[1], Grégoire Barthel[1], Ionel Alb[2], Adriana Tabarna[2], Simon N Thornton[3], Maud Lambert[1], Dan Longrois[4], Gérard Audibert[2], Jean-Marc Malinovsky[5], Paul-Michel Mertes[6]

1 .Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

2. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU Central, Nancy, France. Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

3. Laboratoire U961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

4. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Unité INSERM U698, Paris, France

5. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU de Reims, Reims, France. Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

***6.*Corresponding Author, Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France; Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France.**

***Julien Davidson** and **Feng Zheng** contributed equally to this study

Shock, 2012, 38(4): 429-35

OBJECTIVES: The effects of acute reduction in arterial blood pressure in severe anaphylactic shock (AS) on cerebral blood flow are of paramount importance to be investigated. We studied cerebral circulation and oxygenation in a model of severe AS and compared it to a pharmacologically-induced arterial hypotension of similar magnitude.

METHODS: AS was induced by 1 mg intravenous ovalbumin (OVA) in sensitized rats. Rats were randomized to 3 groups: (i) no resuscitation (OVA; N= 10), (ii) intravenous volume expansion (10 ml in 10 min after ovalbumin injection) (OVA+VE; N=10); (iii) control hypotension (100 µg of nicardipine followed by continuous infusion of 1mg/100g/h intravenously; NICAR; N=10). Mean arterial pressure (MAP), carotid blood flow (CBF), cardiac output (CO), cerebral cortical blood flow (CCBF; estimated by laser Doppler technique) and cerebral tissue oxygen pressure ($PtiO_2$) were recorded over the 15 minutes following AS induction in all three groups.

RESULTS: AS dramatically impaired systemic and cerebral hemodynamics with a 99±1% and 90±1% decrease in CBF, 87±4% and 79±4% in CCBF and 65±8% and 74±6% in $PtiO_2$ in OVA and OVA+VE groups, respectively. It resulted in a linear relation between CCBF and blood pressure (regression slope: 0.87±0.06; median r^2=0.81).

Although volume expansion attenuated systemic hemodynamic alterations induced by AS and maintained partially CBF, it had no impact on CCBF and the $PtiO_2$ decrease.

On the contrary, nicardipine-induced hypotension had a limited impact on CBF, CO, CCBF and $PtiO_2$ for a similar MAP decrease.

CONCLUSIONS: AS resulted in severe impairment of cerebral blood flow, beyond what could be expected from the level of arterial hypotension.

Keywords: Shock; Anaphylaxis; Cerebrovascular circulation; Autoregulation

Introduction

Anaphylactic shock is a rapid, potentially fatal reaction within the spectrum of generalized immediate-type hypersensitivity (i.e., anaphylaxis) (1) which can lead to death even when the reaction is rapidly recognized and adequately treated. Although its epidemiology remains incompletely characterized, anaphylaxis is a relatively common problem (2). The mechanisms of anaphylaxis are thought to be immune (i.e. IgE and/or IgG-mediated) or non immune (mediators released following non-specific stimuli).

The most severe manifestation of anaphylaxis is anaphylactic shock. Its treatment is challenging because its pathophysiology remains largely obscure (3).

Central nervous system dysfunction associated with anaphylactic shock is generally considered to be secondary to hypotension (4). However, the response of cerebral vasculature to changes in blood pressure and cardiac output differs from other vascular territories (5,6). Indeed, in order to maintain adequate cerebral blood flow despite frequent changes in systemic arterial blood pressure and to constantly adjust blood supply to the current metabolic demand dictated by neuronal electrical activity, the brain has developed a myriad of adaptive mechanisms. The mechanisms were probably formed during evolution to protect the central nervous system from potentially fatal consequences of shock states (hemorrhagic and septic) as well as other injuries such as hypoxia or energy substrate deficiency and are grouped under the term "cerebral autoregulation"(7).

However, during anaphylactic shock, the consequences of systemic hemodynamic alterations and the direct effects of mediators of anaphylaxis on cerebral vasculature and brain perfusion remain to be determined. Understanding the consequences of anaphylactic shock on brain perfusion may be of critical importance in delineating optimal therapeutic goals and strategies (8).

We hypothesized that anaphylactic shock could impair cerebral blood flow beyond its characteristic arterial hypotension. In order to test this hypothesis, we measured several determinants of systemic and cerebral hemodynamics in an ovalbumin-induced model of anaphylactic shock in Brown Norway rats. These results were compared with a model of pharmacologically-induced arterial hypotension of similar magnitude (9).

Materials and Methods

Animals and Sensitization Protocol

This study was approved by the Animal Care Committee of the University Hospital (Nancy, France) and was conducted according to the official recommendations of the French Ministry of Agriculture (Paris, France) and the recommendations of the Helsinki Declaration. Brown Norway male rats of 10-week old and weighting 250-300g (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were used for these experiments. They were kept under standard conditions

(temperature 21°±1°C; light from 6 AM to 6 PM) and given a standardized diet (A04; UAR, Villemoisson-sur-Orge, France) and water (Aqua-clear; Culligan, Northbrook, IL) *ad libitum*. Rats were sensitized by subcutaneous administration of grade VI chicken egg albumin (OVA, 1mg; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and aluminum hydroxide (OHA1, 4mg; MercEurolab, Briare Le Canal, France) diluted in 1 ml 0.9% saline solution on days 0, 4, and 14, as previously described (9,10).

Surgical procedure and measurement of hemodynamic variables

The surgical procedure was performed on day 21 following the initial sensitization. Anesthesia was induced using 3% isoflurane. The trachea was intubated, and the lungs were mechanically ventilated with 100% oxygen using a Harvard Rodent respirator model 683 (Harvard Apparatus, Cambridge, MA) in order to maintain $PaCO_2$ between 38 and 42 mmHg. Maintenance of anesthesia was ensured with 1 % isoflurane. Rectal temperature was maintained at 38°±0.5°C by intermittent warming with a heating pad. A fluid-filled polyethylene catheter (internal diameter or ID, 0.58 mm; outer diameter or OD, 0.96 mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) was inserted into the right femoral vein for administration of drugs and fluid maintenance (10ml/kg/h of 0.9% saline solution). Mean arterial pressure (MAP) was continuously monitored with a fluid-filled polyethylene catheter (ID, 0.58mm; OD, 0.96mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) using a strain gauge pressure transducer (DA-100; Biopac Systems, Northborough, MA) inserted into the right femoral artery. Cardiac output (CO) and carotid blood flow (CBF) were measured using perivascular ultrasonic flow probes (RB1 and RB2) (Transonic System Inc, Ithaca, NY) placed on the abdominal aorta and the right carotid artery, respectively.

Following this preparation, animals were placed in the prone position for craniotomy. A flexible Clark-type polarographic oxygen electrode (diameter of 0.5-0.6mm, length of 1mm) connected to a computer-supported Licox system (GMS, Mielkendorf, Germany) was inserted into the right cerebral cortex 2mm lateral to the bregma for cerebral oxygen pressure monitoring ($PtiO_2$). Cerebral cortical blood flow (CCBF) was monitored using a PeriFlux PF 5010 laser doppler monitor (Perimed AB, Stockholm, Sweden) with a laser Doppler needle probe (reference 402, diameter of 0.45 mm, fiber separation of 0.14 mm) inserted into the skull on the surface of the right cerebral cortex 2 mm rostral to the oxygen electrode.

After a 20-min stabilization period animals were randomly allocated into 3 groups according to a computer-generated randomization list. In (OVA) animals shock was induced by injecting intravenously in 1 min 1 mg of ovalbumin diluted in 1ml of 0.9% saline solution in the absence of any treatment (OVA; n=10).

In (OVA+VE) rats, shock was induced with ovalbumin in association with volume expansion (OVA+VE; n=10). Volume expansion (3 ml of 0.9% saline solution over 10 min before, then 10 ml (30 ml/kg) over the first 10 min following shock induction) was chosen to partially attenuate the rapidity of the cardiac output decrease, to allow us to study more precisely cerebral blood flow, brain oxygenation and systemic blood pressure relationship. Volume expansion was preferred to epinephrine in order to avoid possible interactions between mediators of anaphylaxis and epinephrine on cerebral vascular reactivity. Furthermore, this experimental design may mimic a clinical situation where a patient has developed anaphylactic shock outside the hospital while waiting for medical treatment and the only therapeutic intervention could be passive leg raising-induced volume expansion.

The third group consisted of sensitized rats (NICAR ; n=10) in which arterial hypotension corresponding to a 50% decrease in MAP was obtained by intravenous injection of 100µg of nicardipine followed by a continuous intravenous infusion of $1mg.100g^{-1}.h^{-1}$ (Novartis Pharma SA, Rueil-Malmaison, France), as described previously (10).

In all animals, mean arterial blood pressure, cardiac output, carotid blood flow, cerebral cortical blood flow and $PtiO_2$ were continuously monitored. Values were recorded at different times: prior to shock induction (T0), at T1, T2.5, T5 min then every 5 min until the end of experiment.

Statistical Analysis

Results are expressed as mean ± SD. Intra- and intergroup differences were tested by one-way and two-way analysis of variance for repeated measures (Statview®: SAS Institute Inc., Cary, NC). When a significant interaction was observed with two-way analysis of variance, paired comparisons were made with the Fisher *post hoc* test.

For each animal, the linear regression curve for the relation between values of cortical cerebral blood flow versus MAP was drawn, and r^2 was determined. For each group,

mean slope, mean Y-intercept and median r^2 (min-max) were determined and used to draw the mean linear regression curve of the group. Significance was assumed when $p<0.05$.

Results

Thirty ovalbumin-sensitized Brown Norway rats were studied and randomly allocated to the OVA group (263.6±16.3g, n=10), OVA+VE group (267±14.0g, n=10), and NICAR group (283.6±18.4g, n=10). For all measured variables, baseline values in the three groups did not differ during the stabilization period.

This is a model of a very severe anaphylactic shock leading to death of all untreated animals after approximately 20 minutes. The general profile of changes in MAP versus time was similar in the three groups, slight but significant differences among groups were observed ($p<0.05$). In rats receiving nicardipine, an initial sharp decrease of 50% of MAP was observed as soon as 1 min after nicardipine injection, followed by a plateau until the end of experiment (Figure 1 A). A similar sharp decrease in MAP was observed when shock was induced with ovalbumin injection (OVA and OVA+VE groups), but this initial decrease was transiently attenuated by volume expansion (OVA+VE) (Figure 1 A, table 1). Subsequently, a further progressive decrease in MAP was observed. Changes in cardiac output, on the other hand, showed a completely different profile in the three groups ($p<0.001$). A moderate but not significant decrease in cardiac output was observed in rats treated with nicardipine (Figure 1 B, table 1), whereas a very rapid and profound decrease in cardiac output was observed in animals receiving ovalbumin. Once again, this decrease was transiently attenuated by volume expansion ($p<0.05$).

Cerebral perfusion parameters exhibited a completely different profile between the groups ($p<0.01$) (Figures 2 A,B,C, table 1). In the NICAR group, a limited decrease in carotid blood flow (26±9%), cortical cerebral blood flow (10±6%) and $PtiO_2$ values (21±5%) were observed, suggesting that brain perfusion remained relatively well preserved throughout the experiment (Figures 2 A,B,C, table 1). In rats receiving ovalbumin (OVA), in the absence of volume expansion, a rapid decrease in carotid (93±4% decrease in 5 min) and cerebral blood flow (66±8% decrease in 5 min) and $PtiO_2$ (44±8% decrease in 5 min) were observed (Figures 2 A,B,C, table 1), reaching ischemic thresholds values within 5 min following ovalbumin injection. The decrease in carotid blood flow was significantly attenuated by

volume expansion ($p<0.05$) (OVA+VE); however, cortical cerebral blood flow and $PtiO_2$ were not statistically different in the two groups (OVA versus OVA+VE).

The relation between cortical cerebral blood flow versus MAP values showed significant differences between the groups (Figure 3). In the NICAR group, the mean linear regressions slope was 0.23±0.32 (median r^2=0.33; 0-0.99), significantly lower than in the OVA group (0.87±0.19; $p<0.001$)(median r^2=0.81; 0.67-0.99), and than in the OVA+VE group (0.94±0.22; $p<0.001$)(median r^2=0.94; 0.83-1.00)(Figure 3). The mean slopes of OVA and OVA+VE groups were not significantly different ($p>0.05$). In the NICAR group, cortical blood flow was preserved when MAP remained higher than 50 mmHg, and the low r^2 value reflected a non-linear model consistent with preserved autoregulation. In contrast, in the OVA and OVA+VE groups, cortical blood flow decreased as soon as shock was induced, and the r^2 values close to 1 showed that the MAP-cerebral blood flow relation was linear suggesting a profound alteration in cerebral blood flow autoregulation (Figure 3).

Blood gas parameters are presented in Table 2. No differences were observed among groups before ovalbumin or nicardipine injection (T0). Fifteen minutes after onset of shock, the level of PH and PCO_2 in groups suffering from anaphylaxis were significantly lower than in the group NICAR whereas lactate levels where increased when compared with the NICAR group.

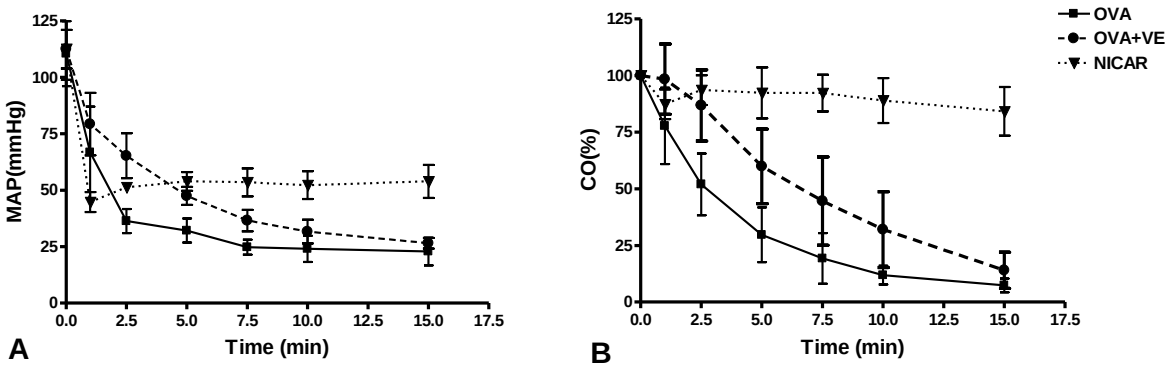


Figure 1: Time course of systemic hemodynamics parameters: mean arterial pressure (A) and cardiac output (B) in nicardipine (NICAR), ovalbumin (OVA) and ovalbumin with volume expansion (OVA+VE) groups. Results are expressed as mean ± SD. CO results are expressed as percentage change from baseline.

A. The time course of MAP values was significantly different among groups ($p<0.05$). An initial sharp decrease in MAP was observed in the three groups. MAP remained stable in the

NICAR group but not in rats receiving ovalbumin (OVA and OVA+VE). The decrease in MAP was transiently attenuated by volume expansion (OVA+VE).

B. A moderate but not significant decrease in CO was observed in rats treated with nicardipine (NICAR), whereas a very rapid and profound decrease in CO was observed in animals treated with ovalbumin (OVA and OVA+VE). Once again, this decrease was transiently attenuated by volume expansion ($p<0.05$).

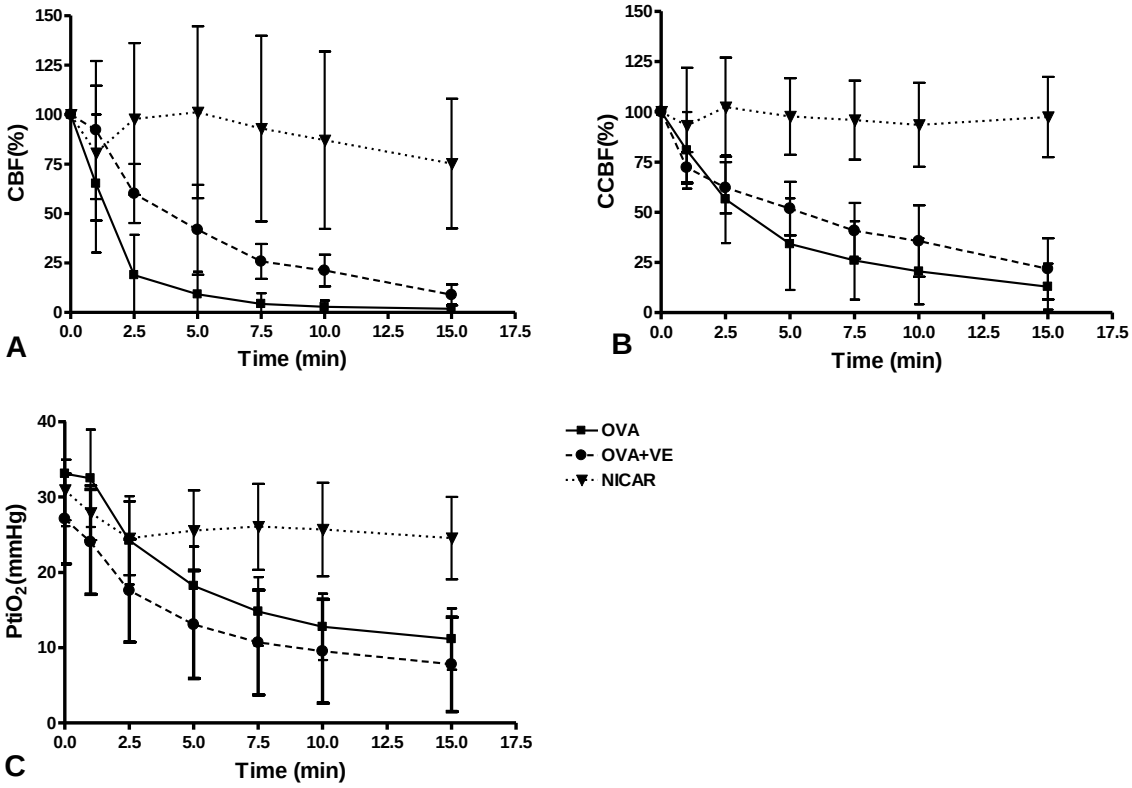


Figure 2: Time course of cerebral perfusion parameters: carotid blood flow (CBF) (A), cerebral cortical blood flow (CCBF) (B) and tissue oxygen partial pressure ($PtiO_2$) (C) in nicardipine (NICAR), ovalbumin (OVA) and ovalbumin with volume expansion (OVA+VE) groups. Results are expressed as mean ± SD. CBF and CCBF results are expressed as percentage change from baseline values. The evolution of the three cerebral perfusion parameters was significantly different among groups ($p<0.01$).

A. CBF was relatively preserved in the NICAR group, whereas a dramatic decrease in CBF was observed in the ovalbumin groups reaching an almost complete interruption of perfusion at 5 minutes (OVA). This decrease was significantly attenuated by volume expansion;

however carotid blood flow reached 50% of the baseline value as of 5 minutes, and complete interruption of carotid blood flow occurred at 15 minutes (OVA+VE).

B. CCBF was relatively preserved in the NICAR group, whereas a dramatic decrease in CCBF was observed following ovalbumin injection (OVA, OVA+VE).

C. $PtiO_2$ was relatively preserved in the NICAR group, whereas a dramatic and similar decrease in $PtiO_2$ was observed following ovalbumin injection (OVA, OVA+VE).

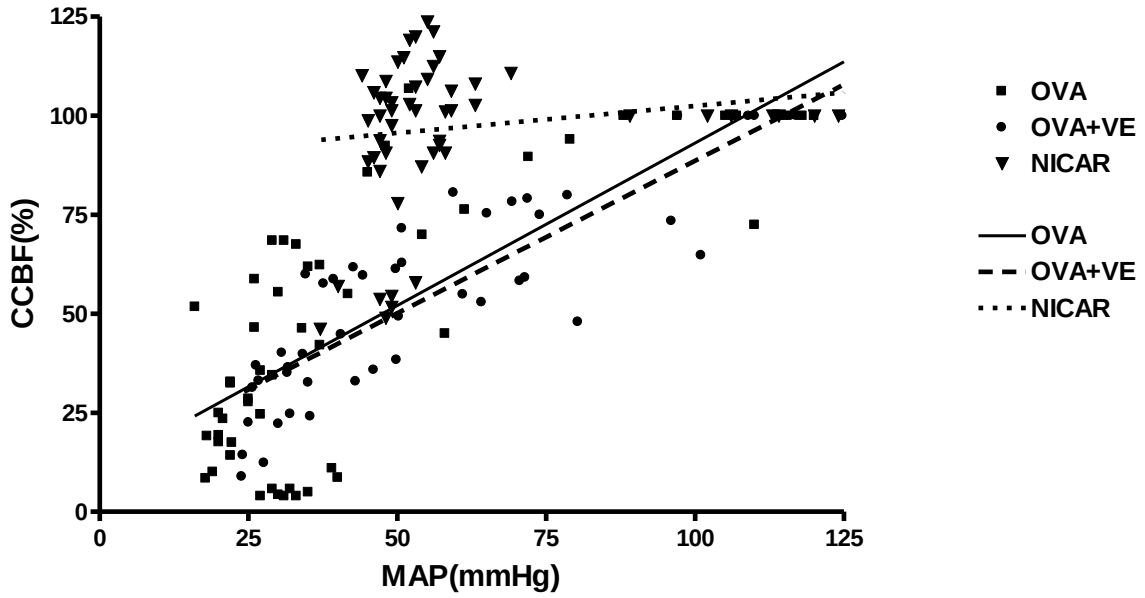


Figure 3: Mean linear regression of the relation between cerebral cortical blood flow (CCBF) changes versus mean arterial blood pressure (MAP) in nicardipine (NICAR), ovalbumin (OVA) and ovalbumin with volume expansion (OVA+VE) groups.

Slopes are statistically different between NICAR group and both other groups (p<0.001), whereas it is not between OVA and OVA+VE groups (p>0.05).

Table1: Time Course of MAP, CO, CBF and CCBF in OVA, OVA+VE and NICAR groups (n=10rats/group).

		OVA	OVA+VE	NICAR
MAP	T0	110.5±14.4	112.5±8.6	112.6±13.7
(mmHg)	T1	66.8±20.3*	79.3±13.8*	44.8±4.5
	T2.5	36.3±5.3*,†	65.3±9.9*	51.3±2.1
	T5	32.1±5.3*,†	47.5±4.0*	53.9±4.2
	T7.5	24.7±3.3*,†	36.6±4.7*	53.5±6.2
	T10	24.0±5.8*,†	31.7±5.3*	52.3±6.2
	T15	22.8±6.1*	26.5±2.4*	53.9±7.3
CO	T0	19.8±2.1	19.8±5.6	19.1±2.3
(ml.min-1)	T1	15.4±4.0	19.5±3.6	16.8±3.0
	T2.5	10.4±3.4*,†	17.2±3.3	17.8±2.3
	T5	6.0±3.1*,†	11.8±3.0*	17.6±2.9
	T7.5	4.0±2.7*,†	8.8±3.7*	17.5±1.7
	T10	2.4±1.0*,†	6.4±3.2*	16.9±1.5
	T15	1.5±0.6*	2.6±1.1*	16.0±1.9
CBF	T0	5.6±1.2*	6.6±1.5*	4.2±0.9
($ml.min^{-1}$)	T1	2.8±1.8†	5.9±1.5*	3.4±1.7
	T2.5	0.9±1.0*	4.0±1.2*	4.1±1.8
	T5	0.4±0.6*,†	2.7±1.4*	4.2±1.9
	T7.5	0.2±0.3*,†	1.7±0.7*	3.9±1.9
	T10	0.1±0.2*	1.4±0.7*	3.6±1.8
	T15	0.1±0.1*	0.6±0.4*	3.4±1.8
CCBF	T0	104±42.9	119.2±27.3	90.3±23.7
(PU)	T1	82.3±31.1	86.1±22.3	79.4±15.4
	T2.5	58.0±29.6*	73.7±18.5	88.4±14.9
	T5	35.3±23.4*,†	61.1±16.7*	84.8±11.6
	T7.5	27.5±22.0*	48.3±16.2*	82.8±8.9
	T10	22.0±18.8*	42.1±19.4*	80.6±10.6
	T15	15.4±11.5*	24.5±17.0*	84.6±11.4

T0: OVA injection. Values are presented as mean ± SD. $^{*}p \leq .05$ vs NICAR group, $^{\dagger}p \leq .05$ vs OVA+VE group.

Table 2: Biochemistry variables in OVA, OVA+VE and NICAR groups(n=10rats/group).

		OVA	OVA+VE	NICAR
PH	T0	7.38±0.04	7.39±0.07	7.41±0.03
	T15	7.17±0.07*,†	7.16±0.02*,†	7.40±0.07
Pco_2	T0	28.1±2.3	28.3±7.6	24.7±5.5
(mmHg)	T15	10.7±4.5*,†	15.2±6.4*,†	29.4±3.6
Po_2	T0	291.3±26.7	309.7±49.8	295.2±34.6
(mmHg)	T15	193.3±35.9*,†	343.2±54.6*	287.0±33.7
Latate	T0	2.7±0.6	2.3±0.4	2.9±1.0
($mmol.L^{-1}$)	T15	13.1±2.8*,†	6.9±2.7*,†	3.4±1.2
Hb	T0	12.1±1.0	12.7±1.1	12.4±1.3
($g.dl^{-1}$)	T15	14.3±2.0*	14.7±1.4*	12.1±0.9

T0: OVA injection. Values are presented as mean ± SD. $^{*}p \leq 05$ vs T0, $^{\dagger}p \leq 05$ vs NICAR group.

Discussion

The main findings of this study were that anaphylactic shock induced by ovalbumin in sensitized rats dramatically impaired both systemic and cerebral hemodynamics. In addition, in this model of anaphylactic shock, cerebral blood flow decreased linearly with the decrease in MAP. Taken together, these observations suggest that during anaphylactic shock, cerebral blood flow and oxygenation impairment are more severe than what could be anticipated from the simple decrease in MAP. Volume expansion did not appear to correct the alterations in cerebral hemodynamics.

The ovalbumin-sensitized Brown Norway rat model has been previously characterized as a suitable model of lethal anaphylactic shock (10) resulting from sensitization associated with the presence of circulating antibodies which belong to a class of

immunoglobulins analogous to human immunoglobulin E (11). Its comparison with a pharmacologically-induced arterial hypotension state (nicardipine infusion) allowed us to investigate the specific consequences of anaphylaxis, considered as a complex hemodynamic and inflammatory process, on cerebral perfusion for a similar acute decrease in MAP. Nicardipine was chosen because its effects on the cerebral vasculature are relatively well documented. It has direct cerebral vasodilating effects and therefore would produce arterial hypotension and cerebral vasodilation without significant decrease in cardiac output (12) in the absence of any inflammatory component. This model has been previously characterized by our group (10,13,14).

We chose also to investigate the effects of volume expansion for the following reasons: (i) anaphylactic shock occurs most often in a non-medical setting, where in a recumbent patient, passive leg raising, an equivalent of volume expansion may represent the single treatment measure available (while waiting for an epinephrine injection or advanced medical therapy). In addition this experimental design allowed us to investigate possible mechanisms that could explain why non anesthetized patients with anaphylactic shock die rapidly when standing (15); (ii) vasoactive drugs such as epinephrine could alter by themselves vascular reactivity and therefore the MAP versus cerebral blood flow relation.

The classical description of an anaphylactic shock is that of a distributive shock during which several regional circulations, i.e. brain, could be (at least in part) preserved by a change in the proportion of blood flow distribution (16, 17). However, this classical view of the hemodynamic consequences of the anaphylactic shock has been recently challenged in several reports, a severe decrease in blood perfusion in an adaptive compartment such as skeletal muscles combined with a persistence of a high level of energy consumption, resulting in a rapid and irreversible failure of energy production has been reported recently (10). In addition, the idea of an initially preserved cardiac output has also been challenged in several animal models of anaphylactic shock. Although several interspecies differences may exist, impaired myocardial contractility has been demonstrated in lethal models of anaphylaxis (18, 19), whereas less severe myocardial depression was observed in non-lethal models (20). In addition, an increase in venous tone in the splanchnic and portal vascular beds, with a pre-sinusoidal contraction within the liver, as well as in the pulmonary veins resulting in a rapid decrease in cardiac output has recently been reported (21-23). In our model, we observed a rapid decrease in cardiac output, which may be related to a decreased venous return, as well as to a direct depressing effect of mediators on myocardial contractility.

Maintaining cerebral blood flow in any type of shock represents a major treatment endpoint. Based on the unexpected diversity of regional hemodynamic response to anaphylaxis shown in experimental models, we hypothesized that, contrary to the canonical view, the classical protective "brain sparing effect" thought to exist in all shock states could be very rapidly altered in severe anaphylaxis. Indeed, anaphylaxis in the OVA group resulted in a rapid and dramatic decrease in cardiac output thus precluding any redistribution of blood flow to the brain. This does not allow us to further investigate any possible simultaneous effect on cerebral blood flow autoregulation.

As could be expected, volume expansion in the OVA+VE group attenuated the sharp decrease of cardiac output observed in the OVA group, allowing us to investigate more precisely the relation between systemic arterial pressure and cerebral perfusion.

This allowed us to demonstrate the possibility that altered cerebral perfusion observed in our model of anaphylactic shock was not only related to decreased cardiac output. Our results suggest also an altered relation between MAP and cerebral blood flow, attested to by the linear relation between MAP and cerebral blood flow in the OVA and OVA+VE groups, by the increased threshold of pressure dependence observed in OVA+VE rats (Figure 3), and by the rapid decrease in cerebral $Pti0_2$. This contrasts with the apparently preserved autoregulation of cerebral blood flow and brain oxygenation observed in the NICAR group (Figure 2 and 3). These results are consistent with our previous report obtained in adaptative compartments such as skeletal muscles, demonstrating a relatively well preserved oxygen delivery in the presence of decreased systemic oxygen transport in nicardipine induced shock, in contrast to a profound decrease in tissue oxygenation resulting from AS (10). They are in agreement with the recent report of an initial loss of cerebral diastolic perfusion assessed by transcranial Doppler monitoring observed in a patient suffering from a penicillin-induced anaphylactic shock (24). They differ from those reported by Kapin et al showing a fall in cerebral vascular resistance in a model of canine anaphylactic shock with relatively preserved cerebral metabolism (25). However, in this experimental model, anaphylactic shock induced with horse serum was not lethal and a spontaneous recovery was observed. As observed in the clinical setting, antigen challenge can result in different reaction severity. This suggests that in mild forms of anaphylaxis, cerebral brain perfusion and metabolism can be relatively preserved, whereas severe anaphylaxis leading to death is characterized by altered brain perfusion.

Our results differ from those obtained in cardiogenic shock during which cerebral cortical microcirculatory flow was fully preserved, demonstrating that the brain was selectively protected during severe states of cardiogenic shock and cardiac output reduction in the absence of cardiac arrest (26). Similar results have been reported in a rat graded pressure-controlled hemorrhagic shock model showing that cerebral microvascular flow was preserved during moderate and severe blood losses as long as MAP was kept over 40mmHg (27). It should be noticed that in both cardiogenic (26) and hemorrhagic (27) shock models, rats were anesthetized. This suggests that the severe alteration of cerebral blood flow regulation we observed in anaphylactic shock was not induced by anesthesia. Our results are also in agreement with data recently obtained in septic shock, a model of shock characterized, like anaphylaxis, by a strong inflammatory reaction, which showed that cerebral microcirculation was also impaired (28).

This suggests that in addition to arterial hypotension, the release of mediators of anaphylaxis acting on the vascular wall (such as histamine, tryptase, nitric oxide, platelet activating factor…) may affect cerebral perfusion (29,30). Indeed, the effects of histamine, tryptase, chymase, bradykinine, prostanoids, leukotrienes and other substances released classically during anaphylaxis on cerebrovascular resistance and blood-brain barrier permeability have long been recognized (31). In addition, the potentially deleterious role of mast cells resident within the cerebral microvasculature in the very early phase of brain injury, by their rapid action on cerebral vessels, has recently been emphasized in other models of cerebral ischemia and hemorrhage (32). Furthermore, strong evidence suggests that platelet activating factor and nitric oxide are key mediators in anaphylactic shock (29,33). Platelet activating factor was also shown to reduce cerebral blood flow and to increase cerebral metabolic rate for oxygen in rats (34). This could explain both the decrease in cerebral blood flow during anaphylactic shock in our model and the absence of lag time before the decrease in $PtiO_2$. In addition, the decrease in arterial Pco_2 observed during anaphylactic shock might have also contributed to the reduction in CBF we observed.

There are several limitations of this study that should be taken into account: (i) the rats were not senescent and did not have chronic systemic arterial hypertension or chronic medication that may have interfered with regulation of cerebral blood flow as could be the case in humans suffering from anaphylactic shock; (ii) the mechanisms and mediators of the immune reaction during anaphylactic shock may be different among species and extrapolation to humans should be cautious; (iii) the MAP-cerebral blood flow relation was investigated

during anesthesia and it is not known whether the same relation could be valid in awake animals.

Conclusion

Treatment of anaphylactic shock remains based mainly on experts' opinions (35) and several treatment failures have been reported even when anaphylaxis is rapidly diagnosed and treated according to international guidelines. These failures are a strong incentive to continue to design new therapeutic strategies. In this regard, our results indicate clearly that, at least in this animal model, cerebral blood flow and oxygenation impairment are more severe than what could be anticipated from the simple decrease in MAP we observed..

Possible clinical implications of our results.

Despite the above-mentioned limitations, our results, analyzed together with those of other investigators (26-28) demonstrate an "etiology of shock"-specific effects on cerebral perfusion. The specific alteration triggered by anaphylactic shock could explain why non anesthetized patients with anaphylactic shock can die rapidly when in the upright position (15).

References

1. Sampson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL, Adkinson NF, Jr., Bock SA, Branum A, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report--Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol* 117(2):391-7, 2006.

2. Lieberman P, Camargo CA, Jr., Bohlke K, Jick H, Miller RL, Sheikh A, et al. Epidemiology of anaphylaxis: findings of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Epidemiology of Anaphylaxis Working Group. *Ann Allergy Asthma Immunol* 97(5):596-602, 2006.

3. Sheikh A, Shehata YA, Brown SG, Simons FE. Adrenaline (epinephrine) for the treatment of anaphylaxis with and without shock. *Cochrane Database Syst Rev* (4):CD006312, 2008.

4. Brown SG. Anaphylaxis: clinical concepts and research priorities. *Emerg Med Australas*18(2):155-69, 2006.

5. Ogoh S, Ainslie PN. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J Appl Physiol* 107(5):1370-80, 2009.

6. van Beek AH, Claassen JA, Rikkert MG, Jansen RW. Cerebral autoregulation: an overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. *J Cereb Blood Flow Metab* 28(6):1071-85, 2008.

7. Rudzinski W, Swiat M, Tomaszewski M, Krejza J. Cerebral hemodynamics and investigations of cerebral blood flow regulation. *Nucl Med Rev Cent East Eur* 10(1):29-42, 2007.

8. Czosnyka M, Brady K, Reinhard M, Smielewski P, Steiner LA. Monitoring of cerebrovascular autoregulation: facts, myths, and missing links. *Neurocrit Care*10(3):373-86, 2009.

9. Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Franck P, Menu P, de Talance N, Zannad F, Laxenaire MC, Longrois D, Mertes PM. Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption. *Anesthesiology* 103(1):40-9, 2005.

10. Bellou A, Lambert H, Gillois P, Montemont C, Gerard P, Vauthier E, et al. Constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improves the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but decreases the survival time in brown norway rats anaphylactic shock. *Shock* 19(1):71-8, 2003.

11. Knippels LM, Penninks AH, Smit JJ, Houben GF. Immune-mediated effects upon oral challenge of ovalbumin-sensitized Brown Norway rats: further characterization of a rat food allergy model. *Toxicol Appl Pharmacol* 156(3):161-9, 1999.

12. Hysing ES, Chelly JE, Douroul MF, Hartley C, Merin RG. Cardiovascular effects of and interaction between calcium blocking drugs and anesthetics in chronically instrumented dogs. III. Nicardipine and isoflurane. Anesthesiology 65(4): 385-91, 1986.

13. Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Lartaud I, Bello G, de Talance N, Longrois D, et al. Comparison of arginine vasopressin, terlipressin, or epinephrine to correct hypotension in a model of anaphylactic shock in anesthetized brown Norway rats. *Anesthesiology* 104(4):734-41, 2006.

14. Dewachter P, Raeth-Fries I, Jouan-Hureaux V, Menu P, Vigneron C, Longrois D, et al. A comparison of epinephrine only, arginine vasopressin only, and epinephrine followed by arginine vasopressin on the survival rate in a rat model of anaphylactic shock. *Anesthesiology* 106(5):977-83, 2007.

15. Pumphrey RS. Fatal posture in anaphylactic shock. J Allergy Clin Immunol 112(2):451-2, 2003.

16. Barbiro-Michaely E, Tolmasov M, Rinkevich-Shop S, Sonn J, Mayevsky A. Can the "brain-sparing effect" be detected in a small-animal model? Med Sci Monit 13(10): BR211-9, 2007.

17. Brown SG. The pathophysiology of shock in anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am* 27(2):165-75, 2007.

18. Chrusch C, Sharma S, Unruh H, Bautista E, Duke K, Becker A, et al. Histamine H3 receptor blockade improves cardiac function in canine anaphylaxis. *Am J Respir Crit Care Med* 160(4):1142-9, 1999.

19. Mitsuhata H, Takeuchi H, Saitoh J, Hasome N, Horiguchi Y, Shimizu R. An inhibitor of nitric oxide synthase, N omega-nitro-L-arginine-methyl ester, attenuates hypotension but does not improve cardiac depression in anaphylaxis in dogs. *Shock* 3(6): 447-53; discussion54, 1995.

20. Hiruta A, Mitsuhata H, Hiruta M, Horikawa Y, Takeuchi H, Kawakami T, et al. Vasopressin may be useful in the treatment of systemic anaphylaxis in rabbits. *Shock* 24(3):264-9, 2005.

21. Cui S, Shibamoto T, Zhang W, Takano H, Kurata Y. Venous resistance increases during rat anaphylactic shock. *Shock* 29(6):733-9, 2008.

22. Liu W, Takano H, Shibamoto T, Cui S, Zhao ZS, Zhang W, et al. Involvement of splanchnic vascular bed in anaphylactic hypotension in anesthetized BALB/c mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293(5):R1947-53, 2007.

23. Karasawa N, Shibamoto T, Cui S, Takano H, Kurata Y, Tsuchida H. Hepatic pre-sinusoidal vessels contract in anaphylactic hypotension in rabbits. *Acta Physiol (Oxf)* 189(1):15-22, 2007.

24. Fox AJ, McLaren IM, Naylor AR. Cerebral perfusion monitored using transcranial Doppler during acute anaphylaxis. *Anaesthesia* 54(7): 678-82, 1999.

25. Kapin MA, Law WR, Raymond RM, Ferquson JL. The cerebral circulatory response during caine anaphylactic shock. *Circ Shock* 20(2): 115-25, 1986.

26. Wan Z, Ristagno G, Sun S, Li Y, Weil MH, Tang W. Preserved cerebral microcirculation during cardiogenic shock. *Crit Care Med* 37(8):2333-7, 2009.

27. Wan Z, Sun S, Ristagno G, Weil MH, Tang W. The cerebral microcirculation is protected during experimental hemorrhagic shock. *Crit Care Med* 38(3):928-32, 2010.

28. Taccone FS, Su F, Pierrakos C, He X, James S, Dewitte O, et al. Cerebral microcirculation is impaired during sepsis: an experimental study. *Crit Care* 14(4):R140, 2010.

29. Vadas P, Gold M, Perelman B, Liss GM, Lack G, Blyth T, et al. Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis. *N Engl J Med* 358(1):28-35, 2008.

30. Cauwels A. Nitric oxide in shock. *Kidney Int* 72(5):557-65, 2007.

31. Wahl M, Schilling L. Regulation of cerebral blood flow--a brief review. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 59:3-10, 1993.

32. Lindsberg PJ, Strbian D, Karjalainen-Lindsberg ML. Mast cells as early responders in the regulation of acute blood-brain barrier changes after cerebral ischemia and hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 30(4):689-702, 2010.

33. Cauwels A, Janssen B, Buys E, Sips P, Brouckaert P. Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO. *J Clin Invest* 116(8):2244-51, 2006.

34. Kochanek PM, Nemoto EM, Melick JA, Evans RW, Burke DF. Cerebrovascular and cerebrometabolic effects of intracarotid infused platelet-activating factor in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 8(4):546-51, 1988.

35. Dunser MW, Torgersen C, Wenzel V. Treatment of anaphylactic shock: where is the evidence? *AnesthAnalg*107(2):359-61, 2008.

I.2.2.4. Résultats et synthèse de la publication

Nos résultats montrent que le choc anaphylactique altère brutalement à la fois l'hémodynamique systémique, l'hémodynamique cérébrale et l'oxygénation cérébrale entraînant une ischémie cérébrale grave qui contribue à la physiopathologie de choc anaphylactique grave. Ces résultats sont significativement différents de ceux obtenus sur un groupe contrôle de choc pharmaco-induit à la nicardipine dans lequel les paramètres cérébraux restent inaltérés malgré une hypotension de même amplitude. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus dans des modèles de choc cardiogénique et de choc hémorragique, dans lesquels la microcirculation corticale cérébrale était préservée au cours de chocs sévères tant que la pression artérielle moyenne était maintenue au-dessus de 40 mmHg (Wan, Ristagno et al. 2009; Wan, Sun et al. 2010). Cela suggère que, en plus de l'hypotension artérielle, la liberation de médiateurs (comme l'histamine, la tryptase, l'oxyde nitrique, le PAF…) de l'anaphylaxie agissant sur la paroi vasculaire peut affecter la perfusion cérébrale.

En raison du caractère «explosif» de notre modèle de choc anaphylactique, les cellules ne peuvent s'adapter à la baisse aiguë de l'apport d'oxygène, ce qui, couplé à la consommation d'oxygène persistant, se traduit par une insuffisance de la production énergétique qui concernera, outre les compartiments adaptatifs tels que le muscle squelettique, tous les organes (y compris le cerveau et le cœur) qui ont des exigences élevées métabolisme basa.

Le rétablissement des mécanismes d'autorégulation de la perfusion cérébrale et de conditions métaboliques restaurées doit donc être considéré comme un objectif majeur de la prise en charge thérapeutique du choc anaphylactique.

I.2.3. Poumon

Avec l'arrêt cardio-circulatoire et/ou respiratoire et l'état de choc, l'hyperréactivité bronchique et le bronchospasme font partie des manifestations systémiques les plus sévères de l'anaphylaxie. Ce sont des manifestations brutales, d'évolution parfois très rapide et potentiellement létales. Chez l'homme, le bronchospasme peut être la manifestation inaugurale du choc anaphylactique lors de l'induction de l'anesthésie ; le diagnostic peut être difficile ou retardé car l'absence de CO_2 expirée résultant d'une ventilation impossible peut être confondue avec une intubation œsophagienne.

I.2.3.1. Tonus bronchomoteur

Les modifications rapides du calibre des voies aériennes au cours d'une anesthésie sont principalement liées à une contraction du muscle lisse bronchique. La proportion de fibres musculaires dans la paroi bronchique augmente de la trachée aux alvéoles, de manière inversement proportionnelle à la taille de la lumière et à la densité cartilagineuse. Il existe physiologiquement un degré de constriction dont le rôle pourrait être, notamment, de maintenir perméables les bronchioles terminales qui ont tendance au collapsus à bas volume pulmonaire en raison de la raréfaction des structures cartilagineuses.

- Système nerveux parasympathique

La stimulation de récepteurs sensibles à l'étirement ou à l'irritation (mécanique, thermique, chimique) situés dans la trachée et le long des bronches, est à l'origine d'une série d'arcs réflexes. L'influx afférent est intégré au niveau du tronc cérébral, puis relayé par des fibres efférentes parasympathiques regroupées dans le nerf vague. Ces fibres forment une synapse ganglionnaire cholinergique dans la paroi bronchique avec les fibres post-ganglionnaires, destinées aux glandes sous-muqueuses et aux cellules musculaires bronchiques. Lors d'une stimulation nerveuse, l'acétylcholine libérée au niveau de la jonction neuromusculaire active des récepteurs musculaires muscariniques de type M3, induisant contraction et bronchoconstriction. Au niveau présynaptique, des récepteurs de type M2 inhibent la libération d'acétylcholine et réduisent la constriction induite par la stimulation vagale. La bronchoconstriction secondaire à une stimulation nerveuse est principalement

médiée par le système parasympathique. Elle est potentialisée par les anticholinestérasiques et inhibée par les antagonistes des récepteurs muscariniques.

- Système nerveux sympathique

Il existe peu d'arguments démontrant une innervation sympathique directe du muscle lisse bronchique. En revanche, les récepteurs bêta-2 des fibres musculaires participent à la régulation du tonus bronchomoteur par l'intermédiaire des catécholamines circulantes. Celles-ci relâchent le muscle lisse et inhibent aussi la libération de médiateurs de l'inflammation par fixation sur des récepteurs bêta-adrénergiques mastocytaires.

- Système non adrénergique non cholinergique (NANC)

Il représente un troisième système neuronal dont les médiateurs sont des neuropeptides bronchoconstricteurs (ex : substance P) ou relaxants (ex : peptide intestinal vaso-actif ou VIP, NO). La substance P et d'autres substances apparentées (tachykinines) stimulent la sécrétion de mucus et l'histaminolibération mastocytaire et augmentent la perméabilité vasculaire. Ces composés sont dégradés par des endopeptidases localisées dans l'épithélium bronchique.

- Épithélium bronchique

Il joue un rôle mécanique passif en empêchant la diffusion de substances irritantes vers les récepteurs nerveux de la paroi. Il synthétise des facteurs bronchodilatateurs (NO, prostaglandines) ou détruit des substances constrictrices (prostaglandines, neuropeptides...). Ainsi, toute lésion ou destruction épithéliale est susceptible d'augmenter le tonus bronchomoteur.

I.2.3.2.Facteurs anesthésiques :

- Inadéquation stimulation/profondeur d'anesthésie :

Les stimulations laryngée et trachéale peuvent, par l'intermédiaire de boucles réflexes, majorer les résistances pulmonaires et provoquer un bronchospasme. Plusieurs travaux

cliniques ont démontré que l'amplitude de la réponse dépendait de la profondeur de l'anesthésie pour un type d'agent donné. À côté d'une stimulation directe, mécanique (laryngoscopie, sonde d'intubation) ou chimique (gaz respiratoires secs et froids), les stimuli nociceptifs chirurgicaux peuvent aussi induire une réponse réflexe motrice, cardiovasculaire ou respiratoire de type bronchospastique.

- Agents anesthésiques :

En plus de l'effet non spécifique lié à la modulation de la profondeur de l'anesthésie, les agents anesthésiques peuvent intervenir sur l'état de constriction du muscle bronchique, directement par une action sur la fibre musculaire lisse et indirectement par modification du tonus vagal ou par histaminolibération.

Les curares peuvent modifier le tonus des voies aériennes supérieures par deux mécanismes distincts.

Ils peuvent induire une histaminolibérationmastocytaire (d-tubocurarine, mivacurium et atracurium).

Les myorelaxants ont de plus une structure chimique proche de l'acétylcholine qui leur permet d'interagir avec les récepteurs muscariniques M2 et M3 de la jonction neuromusculaire (Okanlami, Fryer et al. 1996). Une action antagoniste sur les récepteurs M2 facilite la bronchoconstriction, alors qu'au niveau des récepteurs M3, elle favorise la relaxation du muscle bronchique(Hou, Hirshman et al. 1998). L'effet clinique résultant d'une stimulation simultanée dépend de l'affinité respective de l'agent pour les différents types de récepteurs et de la dose requise pour leur activation. La succinylcholine majore la bronchoconstriction consécutive à l'acétylcholine par un mécanisme indépendant d'une stimulation parasympathique (possible compétition pour les pseudocholinestérases plasmatiques). Le rapacuronium (Org 9487), curare dont le développement a été arrêté, d'action rapide et brève était associé à une incidence de bronchospasme importante (3-15 %) par un effet antagoniste M2 et une fixation allostérique sur M3, augmentant l’effet de l’acétylcholine. Le cisatracurium, à la différence des autres dérivés benzylisoquinolines (mivacurium et atracurium), ne provoque pas d'histaminolibération. Le vécuronium ne modifie pas les résistances bronchiques au cours d'une stimulation vagale chez l'animal.

En inhibant la destruction de l'acétylcholine endogène, la prostigmine et les inhibiteurs des cholinestérases peuvent augmenter le tonus constricteur. L'administration simultanée d'atropine permet de surseoir à une élévation des résistances bronchiques même chez des patients bronchopathes chroniques.

I.2.3.3. Bronchospasme

Le bronchospasme peropératoire est une complication potentiellement grave pouvant parfois engager le pronostic vital. . Les symptômes ressemblent à ceux de la crise d'asthme aigüe grave. L'expiration passive et active est gênée, d'où augmentation progressive de la pression intrathoracique, ce qui réduit les échanges gazeux alvéolo-capillaires et gêne le retour veineux aux cavités du cœur droit. Il en résulte une hypoxie-hypercapnie avec réduction du débit cardiaque. Sa résolution est conditionnée par la rapidité du diagnostic et la mise en route d'un traitement adapté. Définie comme une réduction du calibre bronchique par constriction musculaire et/ou œdème pariétal, sa survenue est souvent liée à l'existence d'une hyperréactivité bronchique.

Une modification du calibre bronchique est susceptible de survenir sous l'influence de différents facteurs physiologiques (tonus bronchomoteur), anesthésiques (Agents anesthésiques) ou ceux liés au terrain, qui interagissent et rendent le plus souvent multifactoriel le mécanisme d'un bronchospasme peropératoire(Martin, Auboyer et al. 2000).

I.2.3.4. Hyperperméabilité bronchique et pulmonaire

Le bronchospasme n'est pas le seul élément caractérisant l'atteinte respiratoire du choc anaphylactique. Hele a démontré qu'une fuite extra-capillaire des protéines plasmatiques (médiée par le récepteur du cys-leucotriène-1) était induite au niveau des voies aériennes par l'administration d'un allergène (ovalbumine) dans un modèle de bronchospasme expérimental (Hele, Birrell et al. 2001). Les modèles avec challenge intraveineux sont peu nombreux (Hele, Birrell et al. 2001; Ellis, Mazzoni et al. 2003; Alfieri, Tramontana et al. 2007; Rossoni, Manfredi et al. 2007; Bayat, Strengell et al. 2009). Dans la plupart des cas les résistances des voies aériennes étaient mesurées avec différentes méthodes mais la fuite capillaire n'était pas évaluée (Ellis, Mazzoni et al. 2003; Rossoni, Manfredi et al. 2007; Bayat,

Strengell et al. 2009) ou avec une méthode invasive (spectrophotométrie du bleu Evans sur poumon ex-vivo) (Hele, Birrell et al. 2001; Alfieri, Tramontana et al. 2007). Enfin, seul un modèle était létal mais la méthode d'évaluation du bronchospasme n'était pas précise (mesure de la pression intratrachéale)(Rossoni, Manfredi et al. 2007).

I.2.3.5. Rationnel de l'étude :

Malgré la gravité des manifestations pulmonaires au cours du choc anaphylactique, il n'existe que peu de données sur leurs mécanismes et en particulier sur les modifications précoces de la mécanique ventilatoire. La faible incidence de cette pathologie rend impossible la réalisation d'études randomisées pour l'évaluation de nouveaux traitements. Dans un but clinique un modèle idéal de bronchospasme allergique doit être induit par une injection intraveineuse d'allergène, il doit être létal, la méthode de mesure des résistances des voies aériennes doit être précise et non-invasive.

La technique des oscillations forcées est une méthode de mesure de l'impédance respiratoire, elle permet de séparer les données de l'impédance mécanique en 2 composantes : la résistance (Rsr) et la réactance du système respiratoire (Xsr) qui caractérisent respectivement le diamètre des voies aériennes et l'élastance du tissu pulmonaire. L'apport des données de l'élastance pulmonaire à celles de la résistance pulmonaire doit permettre une meilleure caractérisation du bronchospasme et de l'œdème pulmonairee ainsi que les effets des traitements habituellement proposés.

L'objectif principal de notre étude était de déterminer l'évolution des 2 composantes (résistance et élastance) de l'impédance mécanique ventilatoire lors d'un choc anaphylactique induit par l'injection intraveineuse d'ovalbumine chez le rat Brown Norway par la technique des oscillations forcées.

L'objectif secondaire de notre travail était l'évaluation de l'éventuelle activité bronchoconstrictrice du curare utilisé dans notre modèle de bronchospasme.

En effet, la plupart des précédents modèles de bronchospasme ou d'hyperréactivité bronchique avaient utilisé des curares afin de s'affranchir de la respiration spontanée(Tigani, Hannon et al. 2001; Ellis, Mazzoni et al. 2003; Tigani, Hannon et al. 2003; Ellis, Cannet et al.

2004; Wollin, Bundschuh et al. 2006; Alfieri, Tramontana et al. 2007; Rossoni, Manfredi et al. 2007; Bayat, Strengell et al. 2009). Ces modèles ne prenaient pas en compte l'impact de ces molécules sur la relaxation ou la contraction du muscle lisse bronchique. Cet impact dépend des affinités du curare pour les récepteurs M2 et M3. Il devrait être mesuré précisément avant de valider ces modèles et de les utiliser dans l'évaluation de nouveaux traitements de l'asthme ou du bronchospasme.

I.2.3.6. Publication:

Biphasic airway – lung tissue response to anaphylactic shock in Brown Norway rats

---

G. Barthel[1,2], F. Zheng[1],J. Davidson[1], B Demoulin[3], C. Montémont[1], J Gaburro[3], P.-M. Mertes[1,4], F. Marchal[3]

1.Groupe Choc, Contrat Avenir INSERM U961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Nancy, France

2. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Central, CHU de Nancy, Nancy, France

3. EA DevAH, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandoeuvre Les Nancy, France

4. Service d'Anesthésie-Réanimation, Hospices Civils, CHU de Strasbourg,

Strasbourg, France

Correspondence :

François Marchal, MD, MSc

EA DevAH, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine

Avenue de la Forêt de Haye, BP 184

F-54505 Vandoeuvre France

Phone : 33383154794 Fax : 33383154798

Email: f.marchal@chu-nancy.fr

Running head: respiratory impedance during anaphylaxis

Soumis au journal Respiratory Physiology & Neurobiology

1. Abstract

Bronchospasm may be part of the response to systemic anaphylaxis in anaesthetized humans. The anaphylactic shock has been characterized in allergic rats, but little data are available on the concurrent changes in airway - lung mechanics. The aim was to describe the respiratory resistance (Rrs) and elastance (Ers) response to ovalbumin (OVA) induced systemic anaphylaxis in allergic rats. Thirty five anesthetized and mechanically ventilated Brown Norway rats were randomly allocated to OVA (n = 20) or vehicle (n=15) sensitization and provocation. Rrs and Ers were obtained by the forced oscillation technique at 20 Hz. Allergic rats showed dramatic and reproducible concurrent peaks in Rrs and Ers within 4 min of OVA injection ($p < 0.0001$). Thereafter, Rrs returned to baseline while Ers remained significantly elevated ($p < 0.0001$). It is concluded that systemic anaphylaxis in allergic rats is associated with severe early acute inhomogeneous bronchoconstriction followed by pulmonary interstitial / small airspace oedema. The model may be of interest to assess treatments targeting the associated bronchoconstriction and/or airway vascular leakage.

Keywords: anaphylaxis, bronchoconstriction, ventilation inhomogeneity, respiratory impedance, airway fluid leakage

2. Introduction

Systemic anaphylaxis is a rare but extremely severe complication of anesthesia in humans and may present with a variety of conditions that include acute bronchospasm and asthma (Woods and Sladen, 2009). The diagnostic may be difficult or delayed and post-mortem reports indicate the airway response may contribute to mortality (Pumphrey and Roberts, 2000). Animal models have been developed to better understand those mechanisms that eventually trigger the acute cardio-circulatory failure. In the Brown Norway rat sensitized to ovalbumin (OVA), a subsequent challenge by a comparatively large systemic dose of the allergen reproducibly triggers lethal shock (Zheng et al., 2013).

Intratracheal OVA challenge in the same preparation induces an increase in lung resistance, with only slight concurrent change in heart rate or blood pressure (Tigani et al., 2001). Similarly, the systemic administration of low dose OVA in this preparation has been used to study the impact of allergy to the lung (Hele et al., 2001). The models are not lethal (Ellis et al., 2003; Hele et al., 2001; Skripuletz et al., 2007; Smith and Broadley, 2007; Tigani et al., 2001; Werner-Klein et al., 2008) and therefore do not match the clinical settings of

anaphylaxis during anaesthesia that is most severe and life-threatening. To the best of our knowledge, little data are available that fully describe the airway – lung response during systemic anaphylaxis in the Brown Norway rat.

The response to OVA of the challenged allergic lung has been shown to include bronchoconstriction described by lung resistance averaged over 15 min following challenge, and post-mortem evidence of airway microvascular leakage (Hele et al., 2001). It is not known to what extent the time course of lung mechanics during systemic anaphylaxis is consistent with such findings. The forced oscillation technique offers the possibility to assess respiratory mechanical impedance (Zrs) as a function of time. A single sine wave pressure is applied at the airway opening where flow is measured. From the complex ratio of transrespiratory pressure to flow, the respiratory resistance (Rrs) and reactance (Xrs) are computed. Rrs characterizes pressure dissipation in phase with flow that occurs mostly in the airways. Under certain conditions, Xrs is a function of the visco-elastic respiratory properties and may conveniently be expressed as apparent respiratory elastance (Ers). The latter has been shown to closely reflect mechanical properties of the lung at the early stage of experimental interstitial edema (Dellaca et al., 2008).

The primary aim of the study was therefore to delineate the Rrs and Ers responses to OVA induced systemic anaphylaxis in Brown Norway rats. The hypothesis was that an increase in Rrs followed by an increase in Ers would attest of the bronchoconstriction – capillary leak sequence of events, suggested by prior studies of the allergic lung (Hele et al., 2001). Measurements of respiratory mechanics are usually performed after neuromuscular blockade to avoid spontaneous breathing (Ellis et al., 2004; Ellis et al., 2003; Tigani et al., 2003; Wollin et al., 2006) that may corrupt the harmonic content of the flow signal, and alter the chest wall impedance (Tomalak et al., 1997). Neuromuscular blocking agents (NMBA) on the other hand may interfere with the bronchoconstriction, depending on their affinity with postganglionic muscarinic receptors (Jooste et al., 2007). A secondary aim of the study was therefore to test whether NMBA would modify the respiratory response of this model of anaphylaxis.

3. Materials and methods

3.1 Animals

Thirty five ten-week-old Brown Norway rats were purchased from Janvier, Le Genest-St-Isle, France. Animals were housed under standard conditions (temperature 21 ± 1°C ; light from 6AM to 6PM) and given free access to water and food. Animal care and experiments were performed according to the recommendations 86-609 CEE issued by the Council of the European communities and under licences from the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche and the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (A54518-03409) and supervision by the Services Véterinaires Départementaux de Meurthe et Moselle.

3.2 Sensitization, treatment and challenge

At day 0, 4 and 14, rats were sensitized by subcutaneous injection of 1 mg grade VI chicken egg albumin (ovalbumin, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and 4 mg aluminum hydroxide as adjuvant (OHAl, Sigma, St Louis, USA) in 1ml 0.9% saline solution, as previously described (Bellou et al., 2003).

Anaphylaxis was induced on day 21 by an intravenous injection of 1 mg ovalbumin (OVA). Controls received an equivalent amount of vehicle solution (VEH). Another arm of the protocol tested the effect of the neuromuscular blocking agent pancuronium bromide injected intravenously (Pavulon® 0.2 mg/kg, Organon SA, Eragny sur Epte, France). Rats were randomly assigned to OVA (weight: 254 ± 3 g, n = 20) or VEH (weight: 255 ± 3, n = 15). In the OVA and VEH group, respectively 9 and 6 rats were given NMBA.

3.3 Anesthesia and animal preparation

Anesthesia was induced with 3% isoflurane and maintained with 60 mg/kg sodium thiopental ip. The rat was placed supine on a heating pad and rectal temperature monitored and adjusted to 38 ± 0.5°C. The animal was tracheotomized, intubated and ventilated in room air using a rodent ventilator (Model 683, Harvard apparatus, Cambridge, MA). The tracheal cannula was connected to a Fleisch # 00 pneumotachograph (Metabo, Hepalinges, Switzerland) to measure airflow and tidal volume. The initial ventilatory rate (80 strokes per min) and tidal volume (1 ml/100g) were adjusted at the beginning of the experiment to titrate $PaCO_2$ in the range 30 - 40 Torr. A positive expiratory pressure was applied by placing the end of the expiratory line under 2 cm of water. A fluid-filled polyethylene catheter (ID, 0.58mm; OD, 0.96mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) was inserted into a femoral artery for arterial blood sampling and pressure monitoring using a strain gauge pressure transducer (DA-100;

Biopac Systems, Northborough, MA). A similar catheter was inserted into a femoral vein for challenge and drug administration.

3.4 Zrs measurement

Zrs was obtained essentially as previously described (Schweitzer et al., 2006). A 20 Hz sine wave pressure oscillation was generated by a horn driver type loudspeaker (ZR4009A, Bouyer, Montauban, France) connected to the respirator circuit and driven by a PC type computer equipped with a 12-bit AD/DA conversion board (PC-Lab, Digimétrie, Perpignan, France). Transrespiratory pressure and the pressure drop across the pneumotachograph were measured with identical differential pressure transducers (± 35 hPa, Micro 176PC14HD2, Honeywell, Scarborough, Ontario, Canada), matched within 1% of amplitude and 2° of phase up to 30 Hz. The common mode rejection ratio of the flow channel was 60 dB at 30 Hz. Pressure and flow signals were low-pass-filtered at 32 Hz using analog filters, digitized at a sampling rate of 160 Hz and the breathing component filtered out. Respiratory resistance (Rrs) and reactance (Xrs) were computed from the Fourier coefficients of pressure and flow and corrected for the 2.1 ms time constant of the pneumotachograph and for the impedance of the tracheal cannula. The flow dependent component in Rrs was eliminated by selecting, breath by breath, the expiratory Zrs value closest to zero flow. This end-expiration value was used because the oscillation flow shows much less distortion than in inspiration. Xrs was used to express Ers as follows:

$$Ers = - 2 \cdot \pi \cdot f \cdot Xrs \qquad (1)$$

where f is the excitation frequency (20 Hz). To minimize noise and short term Zrs fluctuations, data were filtered using a 15 sec period moving average.

3.5 Protocol

Arterial pressure, respiratory pressure and flow were fed to a lab chart recorder, while Zrs was simultaneously computed breath by breath as indicated above. Respiratory mechanics and hemodynamics were synchronized using time markers. The signals were recorded throughout the whole experiment, the duration of which usually did not exceed 30 min including baseline. Pilot Zrs recordings allowed identifying after challenge a prompt rise

followed by return toward baseline, and the changes were characterized respectively as early (peak) and late response. Arterial blood gases were sampled at baseline and after the peak respiratory response, as detected real time from change in transrespiratory pressure. Timing for recording and sampling was matched for controls.

3.6 Data analysis

Comparison among groups was performed using an analysis of variance with OVA and NMBA as independent factors. When a significant interaction was observed, paired comparisons were made with the Fisher *post hoc* test. Statistical significance was retained at $p < 0.05$. Data are mean $\pm$ SEM unless otherwise indicated.

4.1 Baseline

There was no significant difference in hemodynamics, respiratory mechanics (table 1) arterial blood pH, Bicarbonate or P_aO_2 (table 2) among groups at baseline. NMBA was associated with slightly but significantly elevated P_aCO_2 ($p = 0.02$, table 2) but had no effect on hemodynamics or respiratory mechanics (table1). There was no further effect of NMBA on effects of ovalbumin and in what follows the data are pooled for NMBA and non-NMBA.

4.2 Vehicle

The vehicle injection induced no detectable change in mean arterial blood pressure (MAP), Rrs or Ers (table 1) while, if anything, arterial blood pressure was slightly increased toward the end of the experiment ($p = 0.02$). Arterial pH and PaO_2 were significantly increased (respectively, $p = 0.0002$ and $p = 0.001$) and $PaCO_2$ significantly decreased ($p < 0.0001$) from baseline, while Bicarbonate concentration was unchanged (table 2).

4.3 Ovalbumin challenge

A typical response to ovalbumin is illustrated in fig 1 that shows the expected monotonous decrease in MAP, in this case from 120 mmHg down to 30 mmHg within 13 min.

A prompt and dramatic increase in Rrs is observed within seconds of injection, up to a peak occurring 4 min thereafter, a time at which MAP is approximately halved. Overall, the peak Rrs occurring 211 ± 11 sec into the challenge, was 216 $\pm$ 30 % from baseline and Rrs was highly significantly larger than baseline or control ($p < 0.0001$, table 1), coincident with an already significant decrease in MAP ($p < 0.0001$, table 1). A quick return to baseline followed and the late Rrs was not different from baseline ($p = 0.56$).

Ers reached a peak 583 $\pm$ 105 % from baseline, 200 ± 12 sec into allergen injection, thus approximately paralleled the early Rrs change (fig. 1) and was highly significantly larger than baseline or control ($p < 0.0001$, table 1). Next, Ers was found to decrease but –unlike Rrs- stabilised at a value 73 $\pm$ 18 % larger than baseline, and this increase was significantly larger than in controls (7 $\pm$ 3 %, $p < 0.0001$). The late Ers was thus found significantly larger than baseline ($p < 0.001$) or control ($p = 0.009$, table 1).

Arterial blood pH changed toward significant alkalosis and PaO_2 increased as described in the control group (respectively $p = 0.008$ and $p = 0.0005$), and corresponding end-study values were similar to control (table 1). $PaCO_2$ and Bicarbonate were both significantly decreased from baseline and also significantly lower compared with control ($p < 0.0001$, table 2).

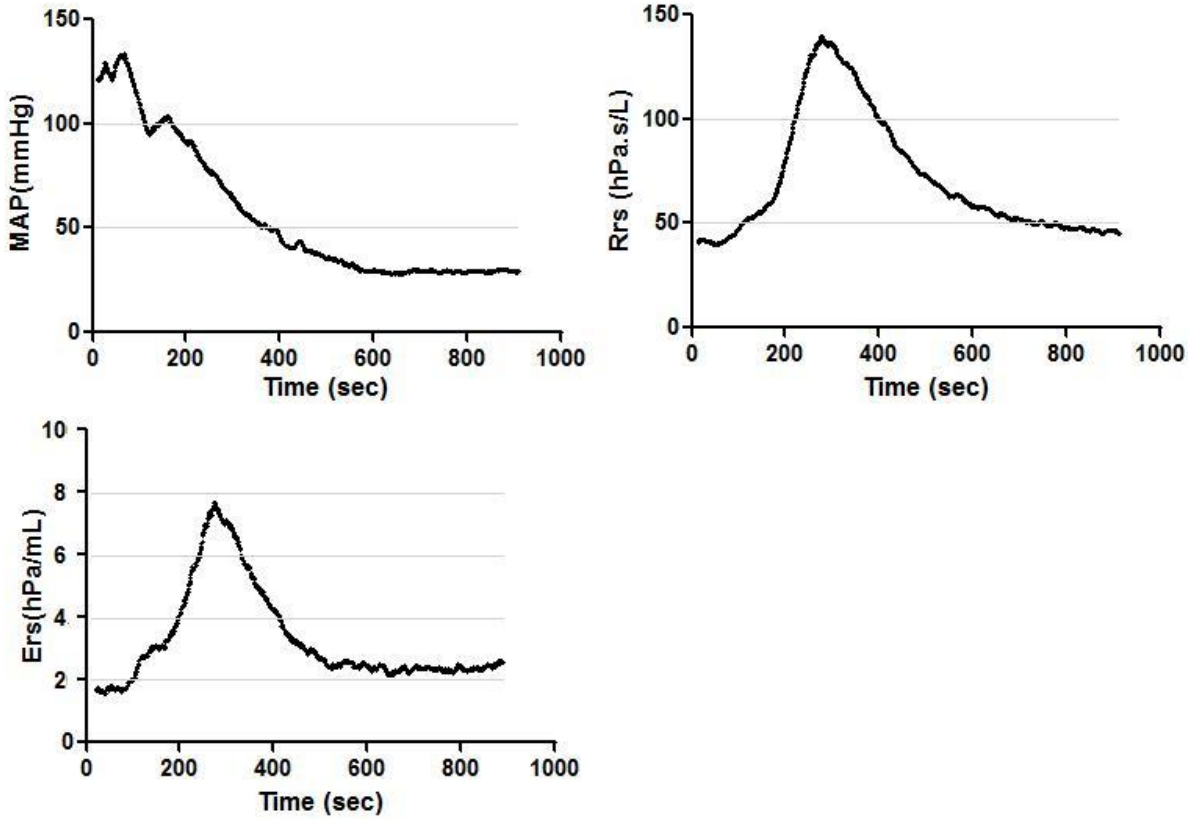


Figure 1. Time course of mean arterial blood pressure (MAP), respiratory resistance (Rrs) and elastance (Ers) during ovalbumin challenge (at marker). Note peak Rrs and Ers responses that contrast with monotonous decrease in MAP. Unlike Rrs, Ers remains elevated from baseline after the peak response.

Table 1. Respiratory mechanics and mean arterial pressure

	condition		VEH	OVA
n			15	20
Rrs (hPa.s/L)	baseline		51 ± 3	53 ± 3
	challenge	early	53 ± 6	161 ± 13 *
		late	50 ± 3	54 ± 1
Ers (hPa/mL)	baseline		1.31 ± 0.18	1.37 ± 0.12
	challenge	early	1.38 ± 0.17	7.83 ± 0.90 *
		late	1.41 ± 0.20	2.10 ± 0.16 §+
MAP (mmHg)	baseline		117 ± 4	125 ± 2
	challenge	early	127 ± 5	80 ± 4 *
		late	128 ± 5	33 ± 3 *

Values are mean ± SEM. VEH: vehicle; OVA: ovalbumin;

Rrs: Respiratory resistance; Ers : respiratory elastance; MAP: mean arterial blood pressure

* $p < 0.0001$ vs VEH or baseline; § $p = 0.009$ vs VEH; + $p < 0.0001$ vs baseline

Table 2. Arterial blood gas and pH

	condition	VEH	OVA
N		14	20
pH	baseline	7,40 ± 0,01	7,38 ± 0,01
	challenge	7,47 ± 0,01[&]	7,42 ± 0,02°
PO_2 (Torr)	baseline	103 ± 3	101 ± 4
	challenge	119 ± 5[&]	120 ± 4[&]
PCO_2 (Torr)	baseline	35 ± 1	35 ± 1
	challenge	29 ± 1[#]	17 ± 1[#*]
HCO_3^- (mmol/L)	baseline	21 ± 1	20 ± 1
	challenge	21 ± 1	10 ± 0[#*]

Values are mean ± SEM. Abbreviations as in table 1.

[&] $p < 0.002$ vs baseline ; [#] $p < 0.0001$ vs baseline; ° $p = 0.008$ vs baseline

* $p < 0.0001$ vs VEH

.

5. Discussion

While the ovalbumin-sensitized Brown Norway rat has been used to characterize the airway (Ellis et al., 2004; Ellis et al., 2003; Hele et al., 2001; Tigani et al., 2001; Tigani et al., 2003; Werner-Klein et al., 2008; Wollin et al., 2006) or the cardiovascular effects of ovalbumin challenge (Dewachter et al., 2005. Zheng et al., 2013), we are aware of little data that describe the full respiratory mechanics response during anaphylactic shock in that model. The lung response to intravenous OVA has previously been assessed mostly from the change in lung resistance averaged over a period of time (Ellis et al., 2003). The current technique using a single oscillation frequency allowed describing the time course of the response in terms of both resistive and elastic changes with a fairly good time resolution. The chest wall impedance was not expected to change throughout the experiment, particularly in those curarized animals, so that the results most specifically point to alterations taking place in the lung.

A major finding was the 2-stage respiratory impedance response. First, Rrs and Ers were found to increase within a min of OVA injection, up to a dramatic peak, typically 3 fold the baseline or larger. Rrs was then observed to return to baseline within the same time frame. Interestingly, the peak Zrs response occurred at a time where blood pressure was significantly but moderately decreased. We are unaware of prior description of the dynamic airway-lung response to anaphylactic shock with similar temporal resolution in the Brown Norway rat model. The current pattern resembles that described during anaphylaxis in mice where low frequency forced oscillation data were fit to the constant phase model to estimate airway resistance and respiratory tissue damping (Cyphert et al., 2009). The transient, but dramatic, increase in airway resistance resembled that observed here. In the typical example airway resistance exhibited a fourfold increase within 60 sec and returned to baseline within 2 min (Cyphert et al., 2009). Interestingly, tissue damping was found to be unaltered throughout the study (Cyphert et al., 2009). There is therefore convergent evidence from both studies that the acute anaphylaxis induced bronchoconstriction takes place at the level of conducting airways. On the other hand, we believe the Ers peak, concurrent to the increase in Rrs in our study, was a likely indicator of the inhomogeneous bronchoconstriction. The pattern of response to intravenous methacholine of the rat lung held at constant volume indicated the observed change in lung mechanics could be interpreted on the basis of a model that accounts for series and parallel inhomogeneities (Bates et al., 1997). Basically, the overall narrowing of more peripheral airway induces shunting of flow within the more central bronchial wall (Jackson

and Watson, 1982). On the other hand, the heterogeneous distribution of airway smooth muscle contraction results in regional (parallel) inequalities of mechanical time constants that induce the decrease in dynamic lung compliance (Lutchen et al., 1996). Of note, the lung elastance estimated at 19.69 Hz – that compares well with the 20 Hz here – was found to be quite sensitive to these mechanisms (Bates et al., 1997). Altogether, in the conditions of the current experiment, the early change in Ers is thus believed to express the inhomogeneous aspect of the airway response.

The role of parasympathetically induced bronchoconstriction in rodent models of ovalbumin induced airway hyperresponsiveness has been stressed in several studies (Cyphert et al., 2009; Eum et al., 1999; Raemdonck et al., 2012). For instance in mice, the airway response to anaphylaxis is depressed by vagotomy (Cyphert et al., 2009) and appears to involve serotonin release that eventually triggers the cholinergic bronchoconstriction (Eum et al., 1999). In the Brown Norway rat, the airway response to ovalbumin has been shown to depend on a cholinergic mechanism that is blocked by the muscarinic antagonist Tiotropium bromide (Raemdonck et al., 2012). Muscle relaxants are used during both routine care of anaesthetized patients and respiratory mechanics measurement in experimental animals. NMBA primarily antagonize the nicotinic cholinergic receptors at the motor end plate of skeletal muscle, but also interact at the muscarinic receptor level on airway smooth muscle and/or nerve endings. In addition, NMBA have the potential to release histamine (Jooste et al., 2007; Okanlami et al., 1996). As a result, the parasympathetically mediated bronchomotor tone may be altered by NMBA (Jooste et al., 2007). It was therefore important, in designing this experimental model of anaphylaxis, to test the impact of the blocking agent. Pancuronium bromide antagonizes both the M2 (prejunctional inhibitor) and the M3 (postjunctional 85inhibitor) cholinergic receptor, potentially altering the magnitude and/or direction of the vagally-induced bronchoconstriction in a dose-dependent manner (Jooste et al., 2007). In the current protocol however, pancuronium bromide 0.2 mg/kg was eventually found devoid of any significant interaction with the airway response to OVA.

After the acute airway response to OVA characterized by concurrent peaks in Rrs and Ers, the former was observed to normalize while the latter was found to stabilize at a value significantly larger than baseline. Therefore at this second stage, the response from the conducting airways on the one hand, and from the apparent lung elastic properties on the other were dissociated. Interestingly, 15 minutes after the systemic low dose ovalbumin, the sensitized Brown Norway rat lung has been demonstrated to exhibit microvascular leakage at

the level of trachea, bronchi and intraparenchymatous airways (Dellaca et al., 2008; Hele et al., 2001). Therefore, in the context of the current systemic response, the delayed increase in Ers – while evidence of conducting airway obstruction had resolved – was likely to correspond to fluid leakage from smaller airspaces, interstitial pulmonary edema or alveolar flooding. In the mice model of anaphylaxis, similar to our increase in Rrs, the acute increase in airway resistance was demonstrated without change in tissue damping throughout the study, but the authors did not report on respiratory elastance – the H parameter of the constant phase model (Cyphert et al., 2009). Therefore it cannot be excluded that respiratory mechanics in rats exhibited a late pattern of change somewhat different from mice. On the other hand, in a pioneering report of anaphylactic shock in OVA sensitized primates, discrete measurements of lung mechanics showed lung resistance to increase 5 min after OVA, in association with a decrease in dynamic lung compliance (Revenas et al., 1979). Later on, lung resistance would decrease toward baseline, while dynamic compliance remained significantly impaired for the next half hour of the experiment (Revenas et al., 1979).

In the spontaneously breathing monkey also, metabolic acidosis was observed to develop together with hypocapnia in the course of response to OVA challenge (Revenas et al., 1979). Here, the picture is somewhat different, owing to the fact that the rat was maintained on artificial ventilation. In spite of efforts being made to stabilize the $PaCO_2$ before the intravenous provocation was started, significant hypocapnia was found to develop thereafter in both OVA and VEH. A likely explanation is that metabolism decreasing during anesthesia resulted in comparatively excessive alveolar ventilation. Since significant alteration in $PaCO_2$ was observed after VEH that induced no change in Zrs, hypocapnia was unlikely to contribute to the bronchomotor response. The arterial blood sampled during challenge showed similar pH, but significantly lower Bicarbonates in OVA *vs* VEH, indicating metabolic acidosis in the former as a result of the systemic anaphylaxis. $PaCO_2$ was also lower in the OVA group, a likely expression of the decreased CO_2 output to the lung (Dewachter et al., 2005).

It is concluded that the biphasic Rrs and Ers response during anaphylactic shock in allergic Brown-Norway rats is consistent with acute bronchospasm followed by pulmonary capillary leakage in smaller airspaces. Each parameter may be of interest as an end point to the testing of new treatment / prophylaxis of the systemic anaphylaxis impact to the lung. The experimental model of bronchospasm appears rather insensitive to NMBA, at least with the current routine dosage. Based on the reproducible early airway response in this model, as well as that previously reported in primates, it is speculated that identifying the earliest change in

respiratory resistance could be of great interest in the management of anaphylactic shock in anaesthetized, paralysed patients undergoing mechanical ventilation.

6. References

BATES, J.H., SCHUESSLER, T.F., DOLMAN, C.,EIDELMAN, D.H., 1997. Temporal dynamics of acute isovolume bronchoconstriction in the rat. J Appl Physiol. 82, 55-62.

BELLOU, A., LAMBERT, H., GILLOIS, P., MONTEMONT, C., GERARD, P., VAUTHIER, E., SAINTE-LAUDY, J., LONGROIS, D., GUEANT, J.L.,MALLIE, J.P., 2003. Constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improves the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but decreases the survival time in brown norway rats anaphylactic shock. Shock. 19, 71-78.

CYPHERT, J.M., KOVAROVA, M., ALLEN, I.C., HARTNEY, J.M., MURPHY, D.L., WESS, J.,KOLLER, B.H., 2009. Cooperation between mast cells and neurons is essential for antigen-mediated bronchoconstriction. J Immunol. 182, 7430-7439.

DELLACA, R.L., ZANNIN, E., SANCINI, G., RIVOLTA, I., LEONE, B.E., PEDOTTI, A.,MISEROCCHI, G., 2008. Changes in the mechanical properties of the respiratory system during the development of interstitial lung edema. Respir Res. 9, 51.

BATES, J.H., SCHUESSLER, T.F., DOLMAN, C.,EIDELMAN, D.H., 1997. Temporal dynamics of acute isovolume bronchoconstriction in the rat. J Appl Physiol. 82, 55-62.

BELLOU, A., LAMBERT, H., GILLOIS, P., MONTEMONT, C., GERARD, P., VAUTHIER, E., SAINTE-LAUDY, J., LONGROIS, D., GUEANT, J.L.,MALLIE, J.P., 2003. Constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improves the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but decreases the survival time in brown norway rats anaphylactic shock. Shock. 19, 71-78.

CYPHERT, J.M., KOVAROVA, M., ALLEN, I.C., HARTNEY, J.M., MURPHY, D.L., WESS, J.,KOLLER, B.H., 2009. Cooperation between mast cells and neurons is essential for antigen-mediated bronchoconstriction. J Immunol. 182, 7430-7439.

DELLACA, R.L., ZANNIN, E., SANCINI, G., RIVOLTA, I., LEONE, B.E., PEDOTTI, A.,MISEROCCHI, G., 2008. Changes in the mechanical properties of the respiratory system during the development of interstitial lung edema. Respir Res. 9, 51.

DEWACHTER, P., JOUAN-HUREAUX, V., FRANCK, P., MENU, P., DE TALANCE, N., ZANNAD, F., LAXENAIRE, M.C., LONGROIS, D.,MERTES, P.M., 2005. Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption. Anesthesiology. 103, 40-49.

ELLIS, K.M., CANNET, C., MAZZONI, L.,FOZARD, J.R., 2004. Airway hyperresponsiveness to bradykinin induced by allergen challenge in actively sensitised Brown Norway rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 369, 166-178.

ELLIS, K.M., MAZZONI, L.,FOZARD, J.R., 2003. Role of endogenous adenosine in the acute and late response to allergen challenge in actively sensitized Brown Norway rats. Br J Pharmacol. 139, 1212-1218.

EUM, S.Y., NOREL, X., LEFORT, J., LABAT, C., VARGAFTIG, B.B.,BRINK, C., 1999. Anaphylactic bronchoconstriction in BP2 mice: interactions between serotonin and acetylcholine. Br J Pharmacol. 126, 312-316.

HELE, D.J., BIRRELL, M.A., WEBBER, S.E., FOSTER, M.L.,BELVISI, M.G., 2001. Mediator involvement in antigen-induced bronchospasm and microvascular leakage in the airways of ovalbumin sensitized Brown Norway rats. Br J Pharmacol. 132, 481-488.

JACKSON, A.C.,WATSON, J.W., 1982. Oscillatory mechanics of the respiratory system in normal rats. Respir Physiol. 48, 309-322.

JOOSTE, E., ZHANG, Y.,EMALA, C.W., 2007. Neuromuscular blocking agents' differential bronchoconstrictive potential in Guinea pig airways. Anesthesiology. 106, 763-772.

LUTCHEN, K.R., HANTOS, Z., PETAK, F., ADAMICZA, A.,SUKI, B., 1996. Airway inhomogeneities contribute to apparent lung tissue mechanics during constriction. J Appl Physiol. 80, 1841-1849.

OKANLAMI, O.A., FRYER, A.D.,HIRSHMAN, C., 1996. Interaction of nondepolarizing muscle relaxants with M2 and M3 muscarinic receptors in guinea pig lung and heart. Anesthesiology. 84, 155-161.

PUMPHREY, R.S.,ROBERTS, I.S., 2000. Postmortem findings after fatal anaphylactic reactions. J Clin Pathol. 53, 273-276.

RAEMDONCK, K., DE ALBA, J., BIRRELL, M.A., GRACE, M., MAHER, S.A., IRVIN, C.G., FOZARD, J.R., O'BYRNE, P.M.,BELVISI, M.G., 2012. A role for sensory nerves in the late asthmatic response. Thorax. 67, 19-25.

REVENAS, B., SMEDEGARD, G.,ARFORS, K.E., 1979. Anaphylaxis in the monkey: respiratory mechanics, acid-base status and blood gases. Acta Anaesthesiol Scand. 23, 278-284.

SCHWEITZER, C., DEMOULIN, B., BELLO, G., BERTIN, N., LEBLANC, A.L.,MARCHAL, F., 2006. Deep inhalation prevents the respiratory elastance response to methacholine in rats. Pediatr Res. 59, 646-649.

SKRIPULETZ, T., SCHMIEDL, A., SCHADE, J., BEDOUI, S., GLAAB, T., PABST, R., VON HORSTEN, S.,STEPHAN, M., 2007. Dose-dependent recruitment of CD25+ and CD26+ T cells in a novel F344 rat model of asthma. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 292, L1564-1571.

SMITH, N.,BROADLEY, K.J., 2007. Optimisation of the sensitisation conditions for an ovalbumin challenge model of asthma. Int Immunopharmacol. 7, 183-190.

TIGANI, B., HANNON, J.P., MAZZONI, L.,FOZARD, J.R., 2001. Effects of wortmannin on airways inflammation induced by allergen in actively sensitised Brown Norway rats. Eur J Pharmacol. 433, 217-223.

TIGANI, B., HANNON, J.P., SCHAEUBLIN, E., MAZZONI, L.,FOZARD, J.R., 2003. Effects of immunomodulators on airways hyperresponsiveness to adenosine induced in actively sensitised Brown Norway rats by exposure to allergen. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 368, 17-25.

TOMALAK, W., PESLIN, R.,DUVIVIER, C., 1997. Respiratory tissue properties derived from flow transfer function in healthy humans. J Appl Physiol. 82, 1098-1106.

WERNER-KLEIN, M., GOGGEL, R., WESTHOF, A.,ERB, K.J., 2008. Development and characterisation of a novel and rapid lung eosinophil influx model in the rat. Pulm Pharmacol Ther. 21, 648-656.

WOLLIN, L., BUNDSCHUH, D.S., WOHLSEN, A., MARX, D.,BEUME, R., 2006. Inhibition of airway hyperresponsiveness and pulmonary inflammation by roflumilast and other PDE4 inhibitors. Pulm Pharmacol Ther. 19, 343-352.

WOODS, B.D.,SLADEN, R.N., 2009. Perioperative considerations for the patient with asthma and bronchospasm. Br J Anaesth. 103 Suppl 1, i57-65.

Zheng, F., Barthel, G., Collange, O., Montemont, C., Thornton, S.N., Longrois, D., Levy, B., Audibert, G., Malinovsky, J.M.,Mertes, P.M., 2013. Methylene Blue and Epinephrine: A Synergetic Association for Anaphylactic Shock Treatment*. Crit Care Med. 41, 193-199.

7. Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Claude Bonabel helpful assistance. Supported by grant EA3450 from the Ministry of Research, Paris, France.

I.2.3.7. Résultats et synthèse de la publication

Notre modèle est un modèle reproductible de bronchospasme survenant au cours d'un choc anaphylactique létal, induit par l'injection intraveineuse d'ovalbumine, chez le rat Brown Norway sensibilisé à l'allergène. L'absence d'impact de la curarisation sur le bronchospasme a été vérifié pour notre modèle, il est aussi reproductible sans curare.

La technique des oscillations permet de décomposer les variations d'impédance respiratoire : la résistance et l'élastance du système respiratoire augmentent rapidement de façon parallèle puis les résistances retournent à un état basal. Seule l'élastance se stabilise à une valeur supérieure par rapport à sa valeur basale. La constitution d'un œdème inflammatoire par extravasation des protéines plasmatiques ou une bronchoconstriction hétérogène et périphérique sont deux explications possibles.

L'originalité de notre modèle expérimental est sa limite : la sévérité et la létalité rapide du choc limitent le recueil dans le temps des données concernant l'évolution de la mécanique ventilatoire et perturbent l'interprétation des gaz du sang (chute des bicarbonates et faible extraction périphérique du CO_2). L'étude complémentaire portant sur l'évaluation de l'atteinte respiratoire et sa correction par différents traitements réalisée dans notre laboratoire devrait permettre de corriger ces limites.

A notre connaissance notre modèle est premier qui étudie le bronchospasme par challenge létal intraveineux d'allergène associant la technique des oscillations forcées. Par sa physiopathologie ce modèle correspond aux réactions anaphylactiques rencontrées en clinique, les données qu'il fournira seront susceptibles d'être transposées plus directement à l'Homme. Il pourra aussi permettre l'évaluation de nouveaux traitements des manifestations respiratoires de l'anaphylaxie.

II. Traitement du choc anaphylactique

Des analyses rétrospectives ont montré que l'adrénaline et le remplissage vasculaire sont efficaces pour la prise en charge du choc anaphylactique peranesthésique(Fisher 1986).

L'injection d'adrénaline agit sur la vasodilatation systémique et inhibe la poursuite de la sécrétion des médiateurs du choc anaphylactique par les mastocytes et les basophiles. La plupart des épisodes de choc anaphylactique répondent au traitement par une dose unique d'adrénaline. Cependant l'administration tardive d'adrénaline est associée à un pronostique défavorable (Sampson, Mendelson et al. 1992; Pumphrey 2000). Son utilisation constitue donc aujourd'hui la base thérapeutique des recommandations nationales et internationales dans la prise en charge du choc anaphylactique. Il existe de nombreux cas cliniques publiés de choc anaphylactiques réfractaires à l'adrénaline ayant poussé les cliniciens à l'administration de drogues de « sauvetage ».

Quand l'adrénaline doit-elle être déclarée inefficace ? Les doses cumulées d'adrénaline considérées comme inefficaces dans la littérature, ayant provoqué le recours à d'autres traitements, sont très variables. Des doses cumulées aussi faibles que 1 mg (dans un contexte de perfusion continu de noradrénaline) et 2 mg (sans autre vasopresseur) d'adrénaline ont dans certains cas suffi pour affirmer son inefficacité (Green and Ball 2005; Schummer, Wirsing et al. 2008). Cependant, les auteurs des recommandations françaises pour la prise en charge du choc anaphylactique survenant en cours d'anesthésie considèrent que des doses cumulées entre 5 et 10 mg sont plus raisonnables avant de déclarer l'adrénaline inefficace (Longrois, Lejus et al. 2011).

II.1. Quel vasoconstricteur : vasopressine *vs* adrénaline

Plusieurs cas cliniques récemment rapporté que l'arginine vasopressine (AVP) l'administration a ses propres avantages potentiels en cas de choc anaphylactique réfractaire à l'adrénaline (Kill, Wranze et al. 2004; Hussain, Yousuf et al. 2008; Meng and Williams 2008). Par conséquent, il a été suggéré que AVP pourrait représenter une nouvelle option thérapeutique pour traiter un choc anaphylactique (Schummer, Schummer et al. 2004; Schummer and Schummer 2009). Cependant, aucun essai contrôlé de traitement chez

l'homme sont disponibles et des recommandations pour l'utilisation de l'AVP sont fondées sur des avis d'experts.

II.1.1.Circulation cérébrale : vasopressine *vs* adrénaline

II.1.1.1.Rationnel de l'étude :

Il existe très peu de données expérimentales concernant les effets de l'AVP sur la circulation régionale des organes vitaux, en particulier le cerveau, dans des modèles de choc anaphylactique ; le maintien du débit sanguin cérébral au cours de l'hypotension est essentiel pour l'homéostasie et la prévention des lésions ischémiques irréversibles, compte tenu de la diminution importante de l'oxygénation du cerveau en état de choc anaphylactique,

Les effets vasculaires de l'arginine-vasopressine (AVP) sont hétérogènes. D'une part, l'activation des récepteurs V1 endothéliaux provoque une vasoconstriction via l'activation de la phospholipase C par une protéine Gq. Cette vasoconstriction augmente les résistances vasculaires systémiques (Landry, Levin et al. 1997; Landry and Oliver 2001). D'autre part, le relargage de NO médié par l'activation du récepteur V1 peut provoquer une vasodilatation, ce qui a été rapporté sur des artères coronaires, pulmonaires et cérébrales (Fox, May et al. 1992; Oyama, Suzuki et al. 1993). Toutefois, les effets de la vasopressine sur la circulation cérébrale sont complexes. Un effet des dépendant évoluant en 3 phases a été mis en évidence avec une vasodilatation à de faibles concentrations (10^{-12} à 10^{-11}M), une vasoconstriction à des concentrations intermédiaires (10^{-10} et 10^{-8}) et une vasodilatation au plus forte concentration. En outre, un effet vasodilatateur des artères cérébrales de grand diamètre et constricteur des petites artérioles cérébrales a été démontré (Takayasu, Kajita et al. 1993).

Dans un travail précédent, nous avons confirmé que AVP et adrénaline ont des effets comparables sur la pression artérielle moyenne au cours du choc anaphylactique(Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2006).

Au-delà de son efficacité potentielle sur l'hypotension artérielle, il semble nécessaire d'analyser de manière comparative les effets de l'adrénaline par rapport à la vasopressine sur l'oxygénation cérébrale. En effet, en cas de choc réfractaire à l'adrénaline, les récepteurs α1-adrénergiques peuvent être désensibilisés ou réprimés (Heck and Bylund 1997; Overgaard

and Dzavik 2008; Mitra, Roy et al. 2011), ce qui limite leur effet vasopresseur, alors que l'AVP, agissant par le biais de récepteurs V1 vasculaires, pourrait accroitre le tonus vasculaire, même si les récepteurs α1-adrénergiques sont régulés à la baisse.

Le but de notre étude était de comparer les effets de l'AD et de l'AVP sur la perfusion cérébrale et l'oxygénation cérébrales

II.1.1.2. Publication

Epinephrine, as compared to arginine vasopressin, is associated with similar hemodynamic effects but significantly improved brain oxygenation in the early phase of anaphylactic shock

---

Feng Zheng MD [1], Olivier Collange MD, PhD[2] , Julien Davidson[3], Grégoire Barthel MD[1,4], Walid Oulehri MD[2], Simon N. Thornton PhD[5], Dan Longrois MD, PhD[6], Bruno Levy MD, PhD[1], Gérard Audibert MD, PhD[1,4], Jean-Marc Malinovsky MD, PhD[1,3], Paul-Michel Mertes MD, PhD[1,2]

1. Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

2. Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

3. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU de Reims, Reims, France

4. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Central, Nancy, France

5. Laboratoire U961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

6. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Unité INSERM U698, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Corresponding Author : Paul-Michel Mertes, Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Phone: 33-369.55.04.44

Fax: 33-369.55.18.10

E-mail:paul-michel.mertes@chru-strasbourg.fr

Financial support: This work was supported by the Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Abbreviated title: Epinephrine and AVP in anaphylactic shock

Soumis au journal British Journal of Anaesthesia

ABSTRACT

Background: Anaphylactic shock (AS) decreases cerebral blood flow more than what could be expected from severe arterial hypotension thus potentially affecting survival through brain hypoxia. We hypothesized that two drugs used to resuscitate AS, epinephrine (EPI) and arginine vasopressin (AVP), may have different effects on brain oxygenation.

Methods: After sensitization and induction of AS by ovalbumin, animals received: either vehicle (OVA group), AVP or EPI. Sensitized control rats received only vehicle and no ovalbumin (CON). Mean arterial pressure (MAP), carotid blood flow (CaBF), cerebral cortical blood flow (CBF) and hippocampal oxygen partial pressure ($Ptio_2$) were recorded.

Results: All rats in the OVA group died rapidly within 15 minutes. EPI and AVP restored a comparable level of MAP, CaBF and CBF but biologically relevant and statistically significantly higher $Ptio_2$ values were observed in the EPI group. The slopes of the correlations MAP versus $Ptio_2$, CBF and CaBF were significantly steeper with AVP (more pressure dependence) compared to EPI. There were linear relations between MAP and CaBF (regression slope: 0.95±0.26, median r^2: 0.52 in AVP *vs* regression slope: 0.85±0.31, median r^2: 0.43 in EPI), CBF (regression slop: 0.84±0.08, median r^2: 0.68 in AVP *vs* regression slope: 0.62±0.10, median r^2: 0.30 in EPI) or $Ptio_2$ (regression slope: 0.20±0.05, median r^2: 0.61 in AVP *vs* regression slope: 0.07±0.06, median r^2: 0.31in EPI) in the AVP group but not in the EPI group.

Conclusions: When EPI and AVP are given for similar macrohemodynamic and cerebral endpoints, EPI is associated with significantly higher $Ptio_2$ values.
Key words: anaphylaxis, epinephrine, oxygenation, regional blood flow, vasopressin

Introduction

Anaphylactic shock is a rare but potentially lethal complication during anesthesia even in apparently healthy individuals[1,2]. It is characterized by systemic vasodilatation that results in circulatory collapse and low tissue perfusion[3,4]. In addition, as demonstrated by our group, it may decrease specifically cerebral perfusion, beyond what could be expected from the level of arterial hypotension, thus resulting in brain ischemia and hypoxia that could contribute to unexpectedly high morbidity and mortality even in individuals without major comorbidities[5].

Epinephrine is recommended in most current guidelines as the first-line treatment[6,7]. Nevertheless, in human anaphylactic shock, epinephrine may fail to restore rapidly adequate organ perfusion or can be completely ineffective in some situations [8-10] characterized as "epinephrine resistance".

Several recent clinical cases have reported that arginine vasopressin (AVP) administration has potential benefits in cases of anaphylactic shock refractory to epinephrine[11-13]. Therefore, it has been suggested that AVP might represent a new therapeutic option to treat anaphylactic shock[14,15]. However, no controlled trials of treatment in humans are available and recommendations for the use of AVP are based on experts' opinions. In addition, there are limited experimental data regarding the effects of AVP on regional circulation of vital organs, especially the brain, in models of anaphylactic shock. Given the severe decrease of brain oxygenation in anaphylactic shock, beyond what could be expected from arterial hypotension *per se*, comparatively investigating the effects of epinephrine versus AVP on cerebral oxygenation is necessary. We consider that brain oxygenation in anaphylactic shock could of crucial importance and may help to explain the mechanism of death in many patients. Indeed, human autopsy studies do not show a specific signature (e.g. pulmonary edema or myocardial ischemia) of anaphylactic shock[16]; therefore, it is possible that brain ischemia/hypoxia may be one of the mechanisms that could explain death in the absence of other measurable consequences on vital organs such as the heart or the lungs. The aim of our study was to compare resuscitation with EPI versus AVP on brain perfusion and oxygenation in a model of lethal (in the absence of treatment) anaphylactic shock.

Materials and Methods

Animals and Sensitization Protocol

After approval by our institutional Animal Care Committee, all animal procedures and care were performed in accordance with the European Communities Council Directive of November 24, 1986(86/609/EEC). Our study was also conducted according to the official recommendations of the French Ministry of Agriculture (Paris, France) and the recommendations of the Helsinki Declaration. Brown Norway male rats of 10-week old and weighing 250-300g (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were used for these experiments. They were kept under standard conditions (temperature 21°±1°C; light from 6 AM to 6 PM)

and given a standardized diet (A04; UAR, Villemoisson-sur-Orge, France) and water (Aqua-clear; Culligan, Northbrook, IL) *ad libitum*. Rats were sensitized by subcutaneous administration of grade VI chicken egg albumin (OVA, 1mg; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and aluminum hydroxide (OHA1, 4mg; MercEurolab, Briare Le Canal, France) diluted in 1 ml 0.9% saline solution at days 0, 4, and 14, as previously described[17-19].

Surgical procedure and measurement of hemodynamic variables

The surgical procedure was performed on day 21 following the initial sensitization. Anesthesia was induced using 3% isoflurane. The trachea was intubated, and the lungs were mechanically ventilated with 100% oxygen using a Harvard Rodent respirator model 683 (Harvard Apparatus, Cambridge, MA) in order to maintain $PaCO_2$ between 35 and 40 mmHg during the stabilization period. Maintenance of anesthesia was ensured with 1 % isoflurane. Rectal temperature was maintained at 38°±0.5°C by intermittent warming with a heating pad. A fluid-filled polyethylene catheter (internal diameter or ID, 0.58 mm; outer diameter or OD, 0.96 mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) was inserted into the right femoral vein for fluid maintenance (10ml/kg/h of 0.9% saline solution) and administration of drugs. Mean arterial pressure (MAP) was continuously monitored with a fluid-filled polyethylene catheter (ID, 0.58mm; OD, 0.96mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) using a strain gauge pressure transducer (DA-100; Biopac Systems, Northborough, MA) inserted into the right femoral artery. Carotid blood flow (CaBF) was measured using perivascular ultrasonic flow probes (RB) (Transonic System Inc, Ithaca, NY, USA) placed on the right carotid artery.

Following this preparation, animals were placed in the prone position ready for craniotomy. A flexible Clark-type polarographic oxygen electrode (diameter of 0.5-0.6mm, length of 1mm) connected to a computer-supported Licox system (GMS, Mielkendorf, Germany) was inserted into the right hippocampus (4.6mm anterior and 2mm lateral to lambda with a depth of 3mm) for cerebral oxygen pressure monitoring ($Ptio_2$). Cerebral cortical blood flow (CBF) was monitored using a PeriFlux PF 5010 laser Doppler monitor (Perimed AB, Stockholm, Sweden) with a laser Doppler needle probe (reference 402, diameter of 0.45 mm, fiber separation of 0.14 mm) inserted into the skull on the surface of the right cerebral cortex 2 mm rostral to the oxygen electrode.

After a 20-min stabilization period, anaphylactic shock was induced by intravenous injection of 1mg (diluted in 1ml of normal saline 0.9%) ovalbumin (T0). Animals were randomly assigned to 4 different groups and received: 1) vehicle in the control group non shocked (CON); 2) no-treatment in the ovalbumin group; 3) epinephrine (Adrénaline; Aguettant, Lyon, France): two boluses of epinephrine 2.5µg were injected, one at 3min (T3) and the other at 5min (T5) after shock induction (T0) respectively; continuous infusion of epinephrine ($10\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$) was initiated immediately after the last bolus injection; 4) arginine vasopressin ((Arginine8)-Vasopressin Grade Solution APP; Sigma-Aldrich): the bolus dose of AVP 0.03IU was injected at T3 followed by continuous infusion of AVP ($0.08\ IU.min^{-1}$). To avoid any excessive volume loading, both drugs were prepared at different dilutions (in normal saline solution), and the syringes were changed when necessary to preserve a volume rate of infusion less than $4\ ml.h^{-1}$. Epinephrine was therefore diluted at 0.5,5,25 or $50\mu g.ml^{-1}$ and AVP at 0.4, 1.2 or $1.5\ IU.ml^{-1}$. The perfusion rate for the continuous infusion was adapted to reach a MAP value of 65mmHg, when the MAP goal was reached and stable during a 5-min period, drug infusion was progressively decreased.

In all animals, mean arterial blood pressure, cardiac output, carotid blood flow, cerebral cortical blood flow and $Ptio_2$ were continuously monitored. Values were recorded prior to shock induction (T0) and then at regular intervals: T1, T2.5, T5, T7.5 and T10 min then every 5 min until the end of experiment (T60). Arterial blood samples were taken from each animal before the shock induction and at the end of the experiment for measurement of arterial blood gas. The animals were euthanized by an overdose of thiopentone sodium after the last blood sample collection.

Statistical Analysis

Results are expressed as mean ± SD. All data were analyzed with the Statview 5.0 software (Deltasoft, Meylan, France). Hemodynamic variables were analyzed by two-way repeated measures analysis of variance or by the non-parametric Kruskal-Wallis test if the normality test failed. For each animal, linear regression curves for the relation between values of CaBF, CBF and $Ptio_2$ versus MAP were drawn, and r^2 determined. For each group, mean slope, mean Y-intercept, and median r^2 (min-max) were determined and used to draw the mean linear regression curve of the group.

Biochemical variables were analyzed by one-way analysis of variance. When a significant difference was detected, *post-hoc* analysis was performed with the Bonferroni post-test correction method. Significance was assumed when $p<0.05$.

Results

Twenty-seven ovalbumin-sensitized Brown Norway rats were studied and randomly allocated to the CON group (263.0 ± 4.5g, n=7 rats), OVA group (260.4± 5.4g, n=7 rats), EPI group (260.3±3.0g, n=6 rats) and AVP group (264.0±6.9g, n=7 rats). For all measured variables, baseline values in the four groups did not differ during the stabilization period.
In this a model of very severe anaphylactic shock, death occured in all untreated animals (OVA group) after approximately 15 minutes, following a dramatic decrease in MAP, CaBF and CBF[5].

Time course profiles for MAP are presented in figure 1. Hemodynamic variables remained relatively stable throughout the entire study period in CON animals, whereas ovalbumin injection resulted in a similar rapid and profound decrease of MAP in the other three groups. In both treatment groups, a transient increase in MAP was observed resulting from the combined effect of 1 ml volume expansion and the vasopressor activity. Subsequently, MAP continued to decrease slowly reaching a minimal value of 37±3.0mmHg in the EPI group and 37±2.6mmHg in the AVP group. After this point, MAP values progressively increased in both treatment groups. There were no significant differences between the EPI and the AVP groups.

The effects of EPI and AVP on CaBF values are presented in figure 2. In groups receiving treatment with epinephrine or AVP, CaBF decreased to 16±10% and 11±9%of baseline values respectively within 10 min. A progressive and significant increase in CaBF was observed after T15 reaching 44±23.7% and 32±19.3% of baseline values at T60 in EPI and AVP groups, respectively. Although higher CaBF values were achieved in the EPI group, the difference failed to reach statistical significance.

The effects of EPI and AVP on CBF values are presented in figure 3; CBF values decreased gradually until T15 following shock induction, then increased progressively to

47.7±13.8% and 63.5±28.5% of baseline values at T60 in the EPI and AVP groups, respectively. The difference was not statistically significant.

The effects of EPI and AVP on $Ptio_2$ values are presented in figure 4. After an initial decrease, $Ptio_2$ values were partially restored in both treatment groups, but with a significantly different $Ptio_2$ time profile ($p<0.05$). In the group treated with EPI, the $Ptio_2$ decrease was limited reaching a minimal value of 25.0±2.2mmHg at T20 and remained higher than the commonly accepted ischemic threshold of 20 mmHg throughout the entire study period. In contrast, in the AVP group, after the induction of anaphylactic shock, a sharp decrease was observed, reaching values below the cerebral ischemic threshold ($Ptio_2<20$mmHg) at T10. The lowest values (14.9±2.0mmHg) were observed at T20 ($p<0.05$ versus the EPI group and the CON group), $Ptio_2$ values then increased progressively reaching 20.8±2.0 mmHg at the end of the study period.

There was no significant difference in the correlation lines between MAP and CaBF in both treatments (figure 5A). In the EPI group and the AVP group, the mean linear regression slope was 0.85±0.31 (median; range: r^2=0.43; 0.04-0.64) and 0.95±0.26 (median; range: r^2=0.52; 0.12-0.74) respectively. The relation between CBF versus MAP is shown in the figure 5B, the mean linear regression slope was 0.62±0.10 (median; range: r^2=0.30; 0.15-0.38) in the EPI group, significantly lower than that in the AVP group (slope: 0.84±0.08, $p<0.05$) (median; range: r^2=0.68; 0.19-0.88). The relation between MAP and $Ptio_2$ is shown in the figure 5C. The mean linear regression slope in the AVP group (slope: 0.20±0.05, $p<0.05$) (median; range: r^2=0.61; 0.30-0.74) was significantly higher than that of the EPI group (slope: 0.07±0.06, $p<0.05$) (median; range: r^2=0.31; 0.01-0.57). The higher r^2 values are consistent with more arterial pressure dependence of CaBF, CBF and $Ptio_2$.

Blood gas parameters are presented in Table 1. No differences were observed among groups before ovalbumin injection (T0). In the absence of treatment, AS resulted in a profound decrease in $PaCO_2$ and PaO_2 values and in a dramatic increase in lactate levels. EPI and AVP administration limited this increase in lactate levels and prevented the decrease in $PaCO_2$ and PaO_2 values.

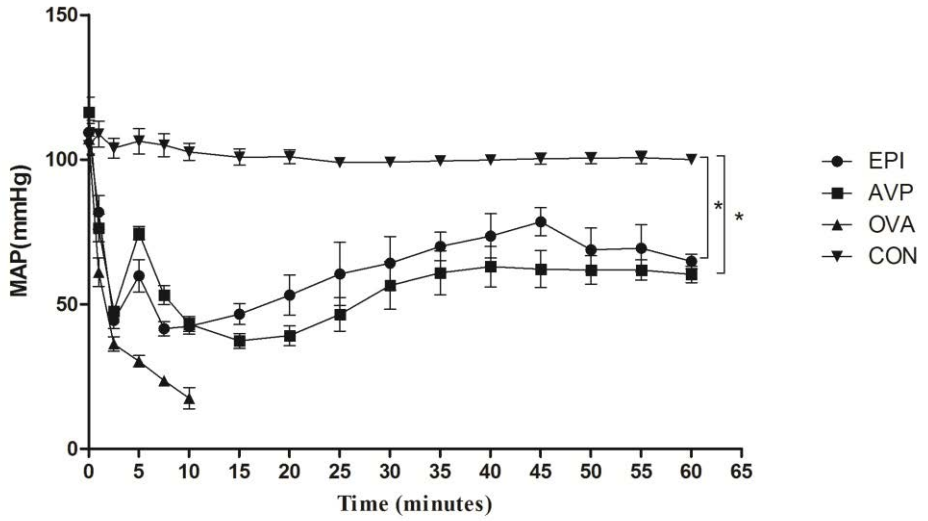


Figure 1: Time course of mean arterial pressure (MAP) in ovalbumin (OVA), control (CON), epinephrine (EPI) and vasopressin (AVP) groups. Results are expressed as mean ± SD. Upright triangle, OVA group; downright triangle, CON group; black circle, EPI group; black square, AVP group. All rats in group OVA died within 15 minutes. The profile of MAP was similar in the group EPI and AVP ($p>0.05$). *$P<0.05$ between-group differences.

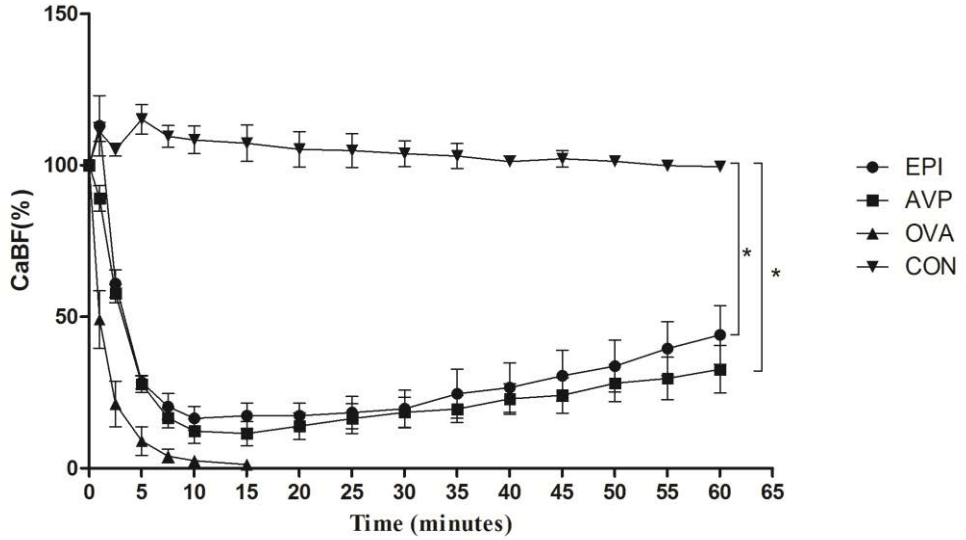
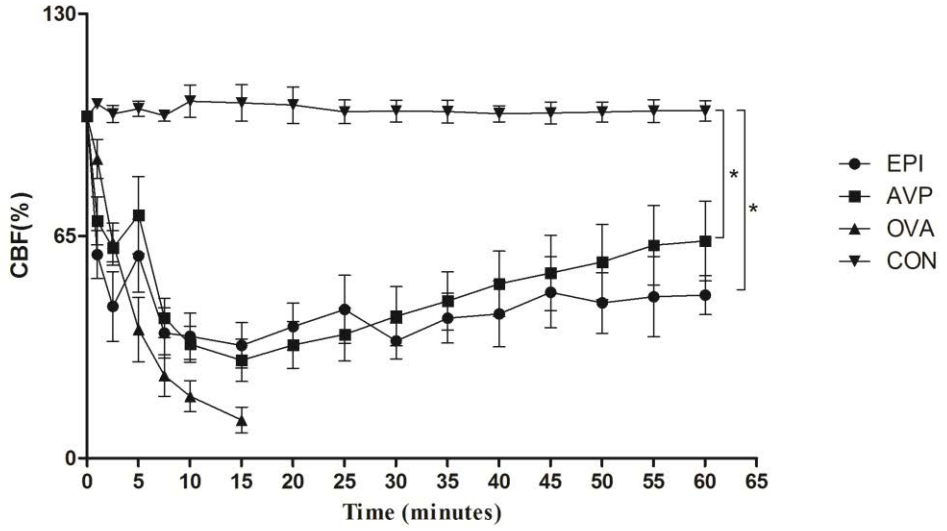


Figure 2: Time course of carotid blood flow (CaBF) in ovalbumin (OVA), control (CON), epinephrine alone (EPI) and vasopressin alone (AVP) groups. Results are expressed as mean ± SD. Upright triangle, OVA group; downright triangle, CON group; black circle, EPI group; black square, AVP group. All rats in OVA group died within 15 minutes. There were no significant differences between the EPI and AVP group. *$P<0.05$ between-group differences.



Figrue 3: Time course of cerebral cortical blood flow (CBF) in ovalbumin (OVA), control (CON), epinephrine (EPI) and vasopressin (AVP) groups. Results are expressed as mean ± SD. Upright triangle, OVA group; downright triangle, CON group; black circle, EPI group; black square, AVP group. All rats in OVA group died within 15 minutes. There is no significant difference between the EPI and AVP group. *P<0.05 between-group differences.

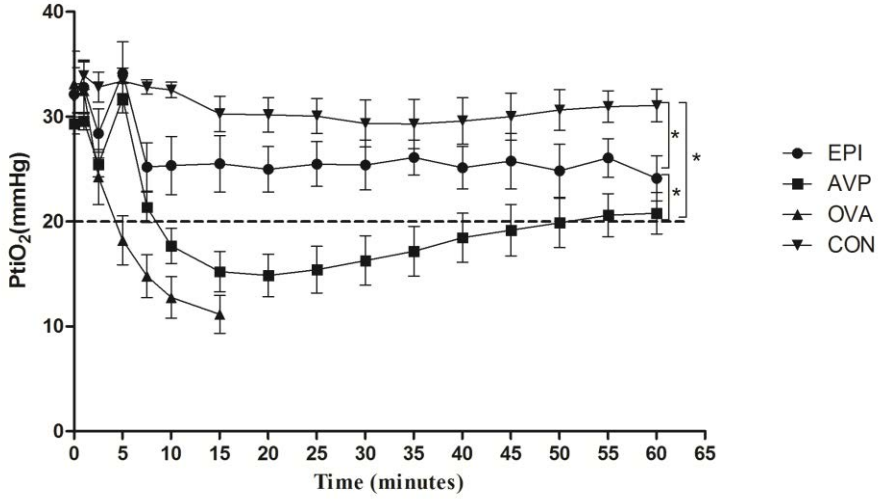


Figure 4: Time course of brain tissue oxygen partial pressure (Ptio2) in ovalbumin (OVA), control (CON), epinephrine (EPI) and vasopressin (AVP) groups. Results are expressed as mean ± SD. Upright triangle, OVA group; downright triangle, CON group; black circle, EPI group; black square, AVP group. The dotted line corresponds to the ischemic threshold. All rats in OVA group died within 15 minutes. The profile of Ptio2 was significantly different between the two treated groups in the period T10-T40 ($p<0.05$). *P<0.05 for between-group differences.

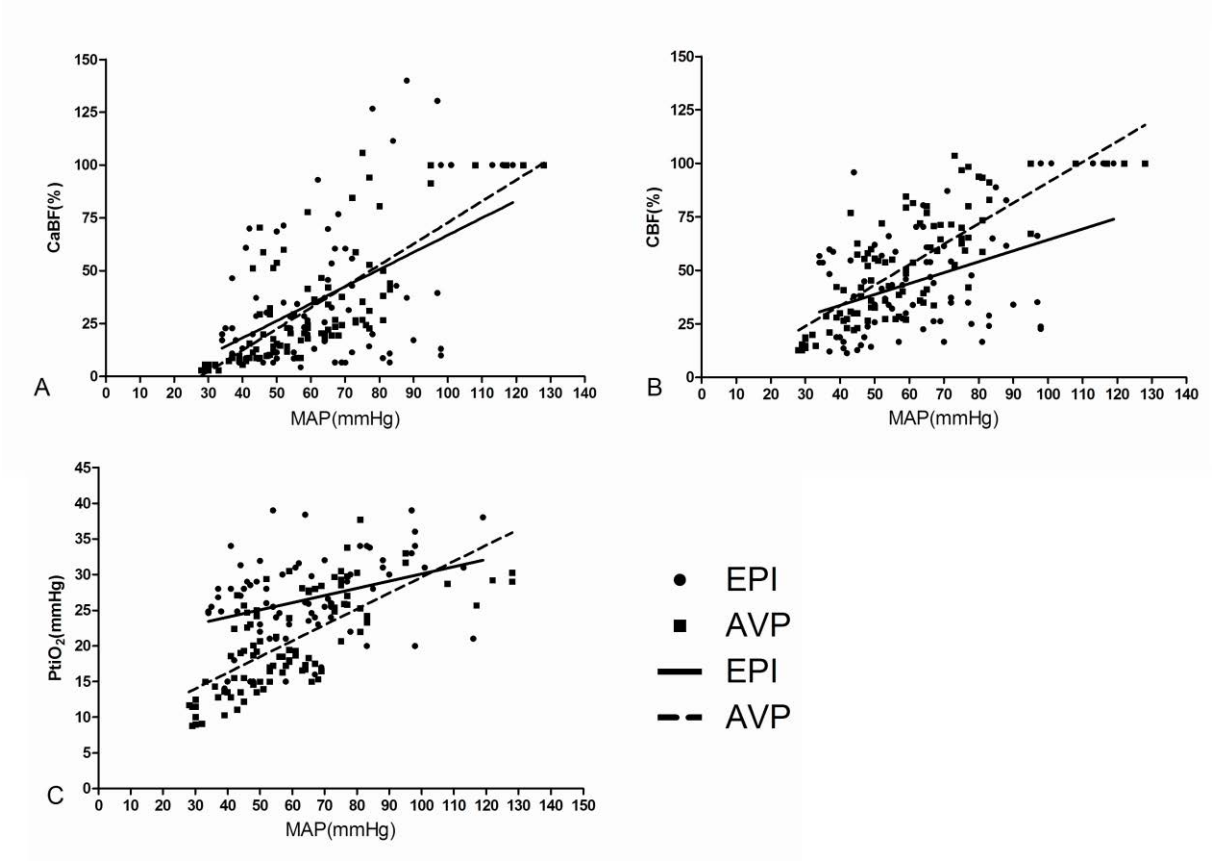


Figure 5: Mean linear regressions of the relation between CaBF, CBF or Ptio2 changes versus MAP in EPI and AVP groups. In figure B and figure C, slopes were statistically different between the EPI and the AVP groups ($p<0.05$).

Table 1: Biochemistry variables in ovalbumin (OVA), Control (CON), Epinephrine (EPI) and Arginine vasopressin (AVP) group.

		OVA	CON	EPI	AVP
pH	baseline	7.39±0.04	7.41±0.01	7.43±0.02	7.40±0.01
	final	7.21±0.04[a,b]	7.39±0.02	7.22±0.05[a,b]	7.19±0.07[a,b]
$PaCO_2$ (mmHg)	baseline	38.1±1.2	36.4±1.1	38.9±1.6	38.3±1.8
	final	17.4±1.6[a,b]	37.7±1.7	51.4±0.7[a,b,c]	51.9±2.2[a,b,c]
PaO_2 (mmHg)	baseline	294.7±6.6	293±12	295±16	293±20
	final	198±12[a,b]	292±10	355±24[a,b,c]	323±30[a,b,c]
Lactate ($mmol.L^{-1}$)	baseline	2.9±0.2	2.5±0.1	2.4±0.2	2.6±0.3
	final	14.9±0.9[a,b]	2.6±0.1	6.6±0.8[a,b,c]	8.1±1.7[a,b,c]
Hemoglobin ($g.dl^{-1}$)	baseline	12.2±0.8	12.1±0.7	13.2±0.3	12.6±0.3
	final	14.2±0.2[a,b]	12.1±0.4	14.5±0.3[a,b]	14.4±0.7[a,b]

Baseline corresponds to the injection of ovalbumin. All biochemistry variables were measured in arterial blood. All rats in the groups OVA died within 15mins after induction of shock. Values are presented as mean ± SEM. [a]$p \leq .05$ vs baseline value, [b]$p \leq .05$ vs CON group, [c]$p \leq .05$ vs OVA group.

Discussion

The main findings of our study were that: 1) in the absence of treatment, rats in the OVA group died within 15 minutes after induction of shock, whereas administration of EPI or AVP increased MAP, CaBF, CBF, $Ptio_2$ and extended survival time; 2) EPI, as compared to AVP, resulted in less pressure-dependence for CaBF, CBF and $Ptio_2$; (3) despite similar macro- and cerebral hemodynamic profiles, treatment with EPI was associated with significantly higher hypocampal $Ptio_2$ values compared to AVP.

Maintenance of cerebral blood flow during hypotension is essential for homeostasis and the prevention of irreversible ischemia damage. In our previous work, we confirmed the severe decrease in regional flow in skeletal muscle [17] in anaphylactic shock. Anaphylactic shock was also associated with a significantly more severe decrease of brain perfusion than that which would have be expected from arterial hypotension alone[5]. In the present study, in the group OVA, in the absence of treatment, a severe decrease in MAP, CaBF, CBF and $Ptio_2$ was observed which resulted in death in all rats within 15mins.

Pharmacological elevation of blood pressure is a therapeutic goal in patients with severe anaphylactic shock in order to prevent cerebral ischemia. However, a dissociation between MAP values and local circulation may exist during anaphylactic shock before and after onset of treatment[5,17]. In our study, we focused on the effects of epinephrine and AVP on cerebral blood flow for comparable MAP and CaBF values.

A key reason for studying the effects of AVP on the cerebral perfusion in anaphylactic shock was the suggestion that AVP might be a potential therapeutic drug in catecholamine-refractory anaphylactic shock[11-13]. The rationale is that in clinical settings, catecholamine α1-adrenergic receptors may become be desensitized or downregulated[20-22], limiting their vasopressor effects. Because AVP acts through vascular V1 receptors, it could restore vascular tone even if α1-adrenergic receptors are downregulated. Moreover, in previous work, we showed that AVP and epinephrine had comparable effects on mean arterial pressure[18]. However, the effects of AVP on the cerebral perfusion in anaphylactic shock were still unknown.

One important issue when using AVP is the dose. There are persisting controversies concerning the doses of AVP in all forms of shock, mainly because of the perceived risk of excessive vasoconstriction in the splanchnic[23], mesenteric and renal circulations as well as other territories[24,25] thus resulting in lower survival rates[26]. Indeed, in clinical practice, high doses of exogenous AVP will never be used. In the current study, the doses of vasopressin were chosen according to our previous experiments[18] and we had confirmed that for these doses of AVP, there were no differences for skeletal muscle $Ptio_2$values as compared to EPI[18]. We monitored $Ptio_2$ in the hippocampus, because this brain region is known to be vulnerable to cerebral hypoxemia and ischemia. As expected, in our study, epinephrine and AVP restored partially systemic hemodynamic variables and cerebral perfusion thus preventing cerebral ischemia and both treatments resulted in comparable MAP, CaBF and CBF values. There were two major differences between AVP and EPI. First, for the AVP group, the slope of MAP versus $Ptio_2$ (see Figure 5C) suggests more pressure dependence in the AVP group as compared to the EPI group. These results are in favor of the use of epinephrine to improve brain oxygenation. The second is that AVP was associated with significantly lower hypocampal $Ptio_2$ values compared to EPI.

The overall effects of EPI and AVP on the brain are probably a consequence of their systemic and cerebral effects but are also influenced by other factors such as the blood brain barrier and the status of cerebral autoregulation. Beneficial effects of epinephrine in anaphylactic shock are mediated by its mixed effects on α- and β-adrenergic receptors, which increase cardiac preload by reducing venous capacitance and increase cardiac inotropy and chronotropy. Compared to agents being more selective than epinephrine for α- adrenergic receptors, epinephrine is more effective in promoting coronary and cerebral blood flow[27]. In addition to the control of cerebral perfusion by autoregulation, cerebral vascular tone is influenced by the actions of autonomic nerves. Therefore, epinephrine may achieve additional benefits due to its agonist action on vascular β-adrenergic receptors. Animal studies have shown that this action can dilate the cerebral microvasculature and improve cerebral perfusion[27,28]. This is consistent with our finding that EPI improved CBF of the cortex and the $Ptio_2$ of the hippocampus.

The precise mechanism of vasopressor action induced by AVP remains unclear, the activity of vasopressin seems to vary according to the subject's physiologic state and the dose used[29-32]. In vasoplegic shock states, AVP attenuates several pathophysiological mechanisms

of vasodilatory shock by: decreasing the synthesis of inducible nitric oxide (NO) synthase; blocking the target enzyme of the NO pathway; blunting the increase in cGMP induced by NO (our recent results demonstrate that excessive cGMP generation is involved in the pathophysiology of anaphylactic shock[33]; and directly inactivating K_{ATP} channels in vascular smooth muscle[9]. In addition, vasopressin could act during anaphylaxis as an "anti-inflammatory drug" by antagonizing the effects of nitric oxide. However, in the rat brain, AVP has been shown to have a triphasic effect with vasodilatation at low concentrations (10^{-12} to 10^{-11} M), vasoconstriction at intermediate concentrations (10^{-10} to 10^{-8}) and vasodilatation at higher concentrations[34]. Furthermore, AVP have been shown to vasodilate large cerebral arteries and to vasoconstrict small cerebral arterioles. These effects, specifically observed in rats, could explain our results.

Some limitations of this study should be taken into account: (i) we did not measure metabolism in brain tissue, but in general, the metabolic result goes in parallel with $Ptio_2$ values; (ii) we did not measure NO production in cerebral tissue, whereas the NO pathway may be involved in the mechanism of action of AVP; (iii) the mechanisms and mediators of the immune reaction during anaphylactic shock may be different among species and extrapolation to humans should be done with caution.

Conclusion

We provide information on regional cerebral perfusion in a rat model of lethal anaphylactic shock treated with epinephrine or AVP and demonstrate that EPI is superior to AVP in preserving hippocampal $Ptio_2$, one of the most vulnerable areas to ischemia in the early phase of lethal anaphylactic shock.

Conflict of interest

None of the authors declare any conflict of interest in relation to this study.

Acknowledgments

We are indebted to Chantal Montémont for technical assistance.

References

1 Dong SW, Mertes PM, Petitpain N, Hasdenteufel F, Malinovsky JM. Hypersensitivity reactions during anesthesia. Results from the ninth French survey (2005-2007). *Minerva Anestesiol* 2012; 78: 868-78

2 Lienhart A, Auroy Y, Pequignot F, et al. Survey of anesthesia-related mortality in France. *Anesthesiology* 2006; 105: 1087-97

3 Lee JK, Vadas P. Anaphylaxis: mechanisms and management. *Clin Exp Allergy* 2011; 41: 923-38

4 Kemp SF, Lockey RF. Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 341-8

5 Davidson J, Zheng F, Tajima K, et al. Anaphylactic Shock Decreases Cerebral Blood Flow More Than What Would be Expected From Severe Arterial Hypotension. *Shock* 2012

6 Kemp SF, Lockey RF, Simons FE. Epinephrine: the drug of choice for anaphylaxis. A statement of the World Allergy Organization. *Allergy* 2008; 63: 1061-70

7 Sheikh A, Shehata YA, Brown SG, Simons FE. Adrenaline for the treatment of anaphylaxis: cochrane systematic review. *Allergy* 2009; 64: 204-12

8 Chengot T, Goncalves J, Marzo K. Back from irreversibility: use of percutaneous cardiopulmonary bypass for treatment of shock from refractory anaphylaxis during coronary intervention. *J Invasive Cardiol* 2009; 21: e97-100

9 Di Chiara L, Stazi GV, Ricci Z, et al. Role of vasopressin in the treatment of anaphylactic shock in a child undergoing surgery for congenital heart disease: a case report. *J Med Case Rep* 2008; 2: 36

10 Schummer C, Wirsing M, Schummer W. The pivotal role of vasopressin in refractory anaphylactic shock. *Anesth Analg* 2008; 107: 620-4

11 Hussain AM, Yousuf B, Khan MA, Khan FH, Khan FA. Vasopressin for the management of catecholamine-resistant anaphylactic shock. *Singapore Med J* 2008; 49: e225-8

12 Kill C, Wranze E, Wulf H. Successful treatment of severe anaphylactic shock with vasopressin. Two case reports. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 260-1

13 Meng L, Williams EL. Case report: treatment of rocuronium-induced anaphylactic shock with vasopressin. *Can J Anaesth* 2008; 55: 437-40

14 Schummer W, Schummer C. Vasopression and suspected anaphylactic reactions associated with anaesthesia. *Anaesthesia* 2009; 64: 783; author reply

15 Schummer W, Schummer C, Wippermann J, Fuchs J. Anaphylactic shock: is vasopressin the drug of choice? *Anesthesiology* 2004; 101: 1025-7

16 Shen Y, Li L, Grant J, et al. Anaphylactic deaths in Maryland (United States) and Shanghai (China): a review of forensic autopsy cases from 2004 to 2006. *Forensic Sci Int* 2009; 186: 1-5

17 Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Franck P, et al. Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption. *Anesthesiology* 2005; 103: 40-9

18 Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Lartaud I, et al. Comparison of arginine vasopressin, terlipressin, or epinephrine to correct hypotension in a model of anaphylactic shock in anesthetized brown Norway rats. *Anesthesiology* 2006; 104: 734-41

19 Dewachter P, Raeth-Fries I, Jouan-Hureaux V, et al. A comparison of epinephrine only, arginine vasopressin only, and epinephrine followed by arginine vasopressin on the survival rate in a rat model of anaphylactic shock. *Anesthesiology* 2007; 106: 977-83

20 Heck DA, Bylund DB. Mechanism of down-regulation of alpha-2 adrenergic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1219-27

21 Mitra JK, Roy J, Sengupta S. Vasopressin: Its current role in anesthetic practice. *Indian J Crit Care Med* 2011; 15: 71-7

22 Overgaard CB, Dzavik V. Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 118: 1047-56

23 Malay MB, Ashton JL, Dahl K, et al. Heterogeneity of the vasoconstrictor effect of vasopressin in septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 1327-31

24 Shelly MP, Greatorex R, Calne RY, Park GR. The physiological effects of vasopressin when used to control intra-abdominal bleeding. *Intensive Care Med* 1988; 14: 526-31

25 Maturi MF, Martin SE, Markle D, et al. Coronary vasoconstriction induced by vasopressin. Production of myocardial ischemia in dogs by constriction of nondiseased small vessels. *Circulation* 1991; 83: 2111-21

26 Hiruta A, Mitsuhata H, Hiruta M, et al. Vasopressin may be useful in the treatment of systemic anaphylaxis in rabbits. *Shock* 2005; 24: 264-9

27 Vincent R. Drugs in modern resuscitation. *Br J Anaesth* 1997; 79: 188-97

28 Edvinsson L, Lacombe P, Owman C, Reynier-Rebuffel AM, Seylaz J. Quantitative changes in regional cerebral blood flow of rats induced by alpha- and beta-adrenergic stimulants. *Acta Physiol Scand* 1979; 107: 289-96

29 Holmes CL, Patel BM, Russell JA, Walley KR. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. *Chest* 2001; 120: 989-1002

30 Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: Vasopressin and the cardiovascular system part 1--receptor physiology. *Crit Care* 2003; 7: 427-34

31 Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science Review: Vasopressin and the cardiovascular system part 2 - clinical physiology. *Crit Care* 2004; 8: 15-23

32 Bein B, Cavus E, Dorges V, et al. Arginine vasopressin reduces cerebral oxygenation and cerebral blood volume during intact circulation in swine---a near infrared spectroscopy study. *Eur J Anaesthesiol* 2005; 22: 62-6

33 Zheng F, Barthel G, Collange O, et al. Methylene blue and epinephrine: a synergetic association for anaphylactic shock treatment. *Crit Care Med* 2013; 41: 195-204

34 Takayasu M, Kajita Y, Suzuki Y, et al. Triphasic response of rat intracerebral arterioles to increasing concentrations of vasopressin in vitro. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 304-9.

II.1.1.3.Résultats et synthèse de la publication

Nos résultats, mettent en évidence des différences significatives entre le groupe AD et le groupe AVP dans l'évolution des paramètres d'oxygénation cérébrale. Lorsque l'AD et l'AVP sont administrées à des doses permettent d'atteindre des valeurs macro-hémodynamiques similaires, l'AD est associée à des valeurs nettement plus élevées de Ptio2.

Nos résultats peuvent surprendre en regard de ceux obtenus sur un modèle d'arrêt cardiaque chez le porc (Ristagno, Sun et al. 2007). En effet, dans ce modèle le débit sanguin au niveau de la microcirculation corticale était réduit de façon marquée après l'injection d'adrénaline et on notait une plus grande sévérité de l'ischémie cérébrale ($PtiO_2$ plus basse et $PtiCO_2$ plus élevée) après la restauration d'une circulation spontanée dans le groupe adrénaline par rapport au groupe AVP (Ristagno, Sun et al. 2007). La différence tient probablement à une différence pharmacologique entre les deux traitements dans le strict cadre du choc anaphylactique.

L'AVP agit dans le choc anaphylactique par un mécanisme essentiellement vasopresseur par activation des récepteurs V1, fermeture des canaux potassium ATP-dépendants, modulation du NO et potentialisation des autres drogues vasoconstrictrices (Landry, Levin et al. 1997; Landry and Oliver 2001). Mais, son effet sur la perfusion cérébrale dépend du diamètre des vaisseaux sanguins et de la concentration tissulaire de l'AVP.

En revanche, l'adrénaline associe plusieurs mécanismes d'action dans le choc anaphylactique (Longrois, Lejus et al. 2011). L'adrénaline active les récepteurs α et β-adrénergiques. La stimulation des récepteurs α1-adrénergiques se traduit par une vasoconstriction périphérique, une augmentation de la pression artérielle et une diminution de l'extravasation. La stimulation des récepteurs β1-adrénergiques est responsable des effets inotropes et chronotropes positifs de l'adrénaline. La stimulation des récepteurs β2 se traduit essentiellement par un effet bronchodilatateur. Par ailleurs, la transduction du signal de stimulation des récepteurs β1 et β2-adrénergiques est responsable d'une augmentation du contenu cellulaire en cAMP dans plusieurs types cellulaires dont les cellules effectrices du système immunitaire participant à la réaction anaphylactique. Ce phénomène est à l'origine d'une inhibition de la sécrétion des médiateurs de l'inflammation et de l'anaphylaxie (Fugner

1977). Par ailleurs, les agonistes β semblent inhiber le passage des antigènes des vaisseaux vers les tissus périphériques où ils activent les mastocytes (Inagaki, Kawasaki et al. 1997). L'adrénaline inhiberait donc la poursuite du relargage des médiateurs du choc anaphylactique responsables des effets observés sur l'oxygénation cérébrale.

Nos travaux montrent que l'AD est supérieure à l'AVP dans la préservation de la value de $Ptio_2$ de l'hippocampe, l'un des zones plus vulnérables à l'ischémie dans la phase initiale du choc anaphylactique mortelle. Ceci suggère que l'adrénaline permet d'obtenir une meilleure oxygénation du cerveau et doit toujours rester le traitement de première ligne du choc anaphylactique.

II.1.2.Bronchospasme : vasopressine *vs* adrénaline

II.1.2.1. Rationnel de l'étude:

Chez un patient anesthésié, le premier signe d'une réaction anaphylactique peut être l'apparition de symptôme respiratoire ou le collapsus cardiovasculaire L'adrénaline(AD) est considérée comme le traitement de première ligne du choc anaphylactique, en particulier chez le patient présentant des signes cliniques associant un bronchospasme et une hypotension sévère. Récemment, l'arginine vasopressine (AVP), a été proposée comme une alternative en cas de l'absence de réponse à adrénaline au cours du choc anaphylactique (Hussain, Yousuf et al. 2008; Meng and Williams 2008; Schummer, Wirsing et al. 2008; Schummer and Schummer 2009; Simons 2010), mais à ce jour, il n'existe pas de données sur les effets de l'AVP sur le bronchospasme au cours du choc anaphylactique.

Le but de cette étude était d'évaluer la réponse des voies aériennes et les fuites de plasma microvasculaire en réponse à un traitement par Adrénaline versus Vasopressine dans notre modèle de choc anaphylactique.

II.1.2.2. Publication

L'adrénaline est supérieure à la vasopressine pour lever les réponses pulmonaires dans un modèle du choc anaphylactique

---

Feng Zheng[1], Grégoire Barthel [1,2], Bruno Demoulin [3], François Marchal [3], Gérard Audibert[2], Jean-Marc Malinovsky [4], Paul-Michel Mertes[1,5]

1.Groupe Choc, Contrat Avenir INSERM U961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Nancy, France
2. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Central, CHU de Nancy, Nancy, France
3. Faculté de Médecine, Université de Lorraine, EA 3450, Nancy, France
4. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU de Reims, Reims, France
5. Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Introduction

Le bronchospasme est une des expressions cliniques du choc anaphylactique (CA). Certains travaux ont montré que la vasopressine arginine (AVP) pouvait être une alternative à l'adrénaline (AD) en cas de CA réfractaire à AD. A ce jour, il n'existe pas de données sur les effets de l'AVP dans le cadre de bronchospasme au cours du CA.

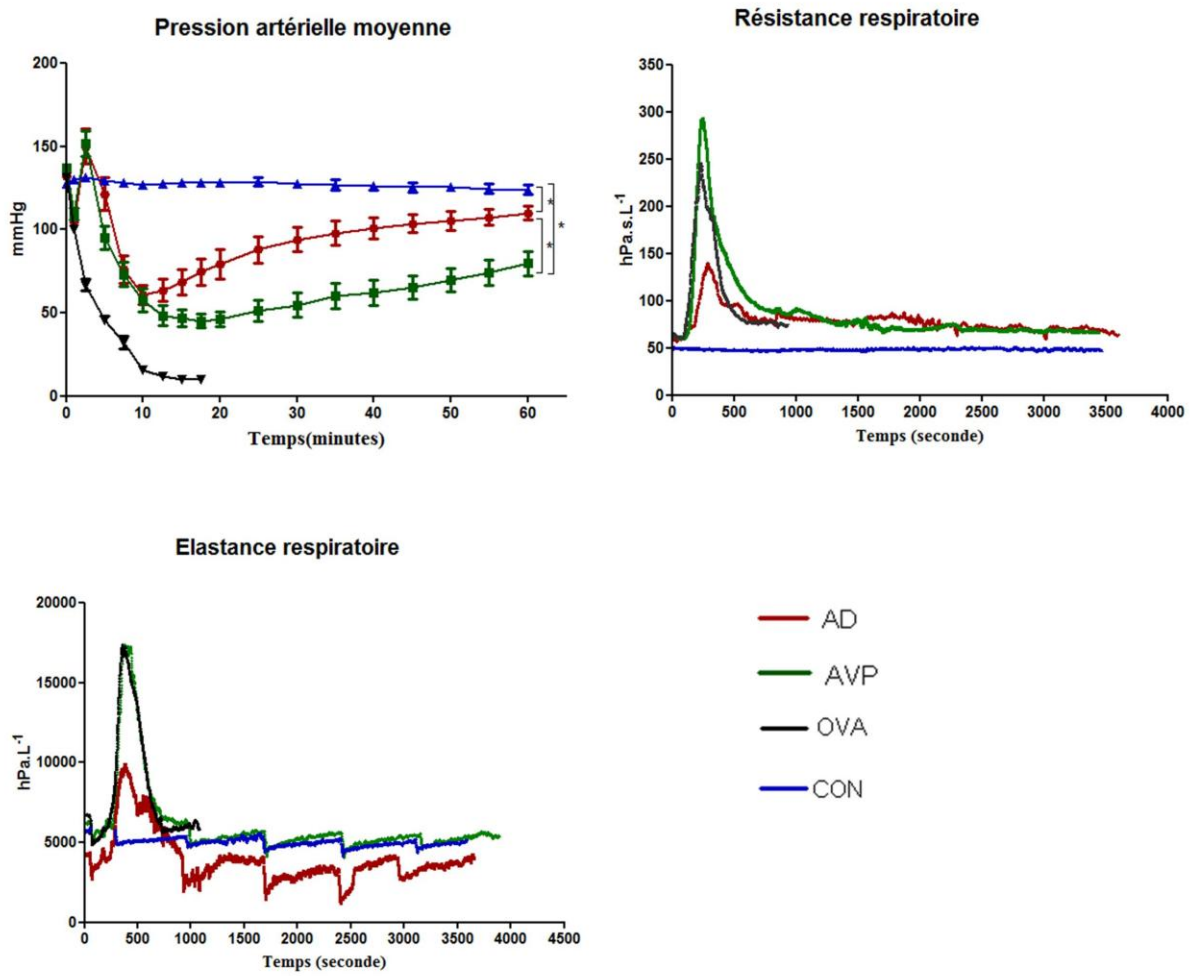
Accepté par les congrès CFA et ESA

Méthodes

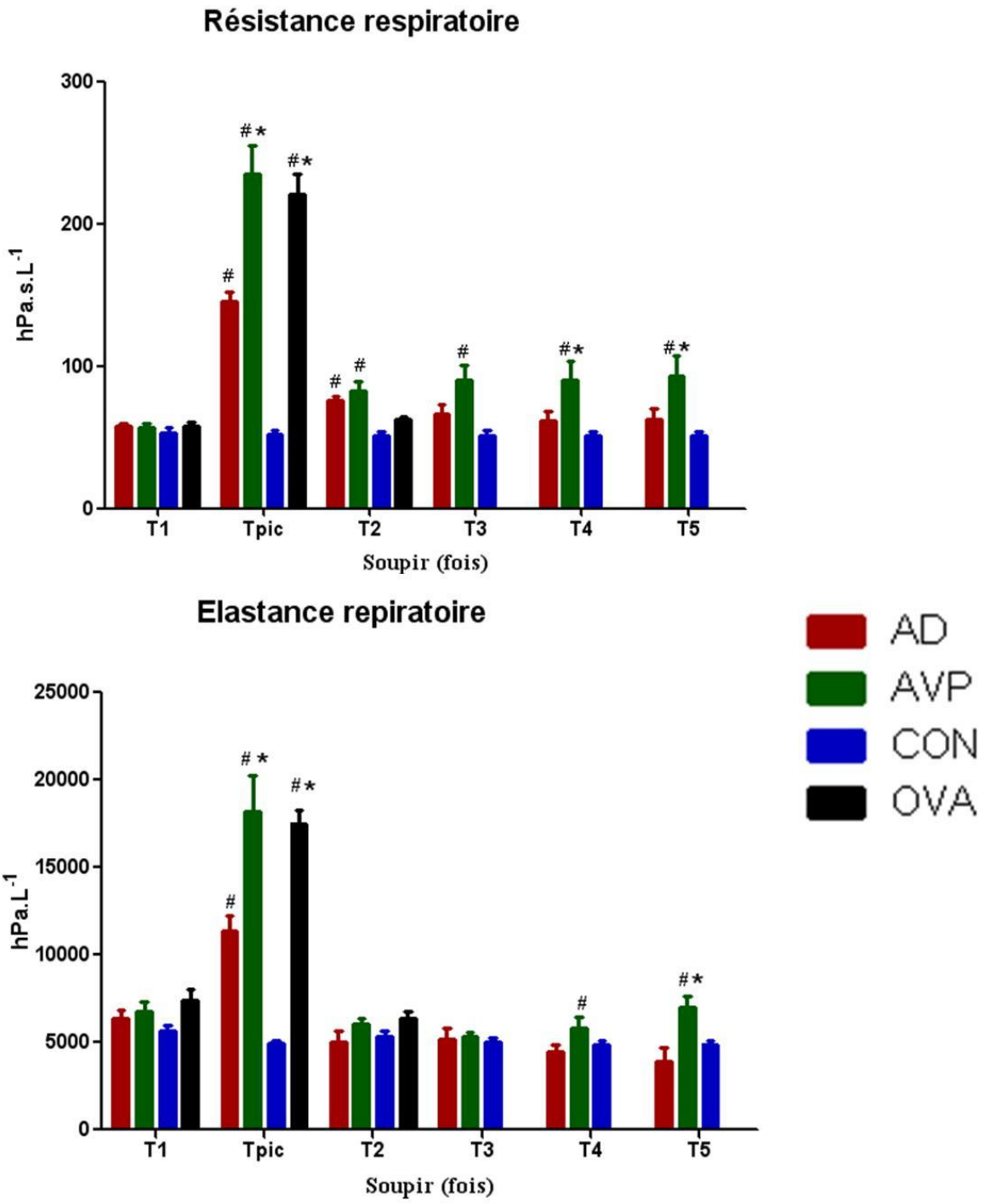
Trente-deux rats sensibilisés à l'ovalbumine (OVA) ont été randomisés en 4 groupes (n=8) selon le traitement administré après induction d'un CA par injection d'ovalbumine chez tous les animaux à l'exception du groupe contrôle : CON = groupe contrôle, OVA = non traité, AD = 2,5µg d'AD à T1 (1min) et T3 (3 min) suivis d'une infusion de10µg.kg^{-1}.min^{-1} d'AD, et un second bolus d'AD à T3, AVP = 0.03UI d'AVP à T1 suivis d'une infusion de 0.08UI.kg^{-1}.min^{-1} d'AVP. Le CA a été induit par l'injection d'ovalbumine (T0) à l'exception du groupe contrôle Les paramètres: pression artérielle moyenne (PAM), résistance respiratoire (Rrs), élastance respiratoire (Ers=-2.π.f.Xrs) et perméablilité microvasculaire (diffusion de bleu Evans dans la trachée, le bronches et les bronchioles intrapulmonaires) ont été mesurés.

Résultats

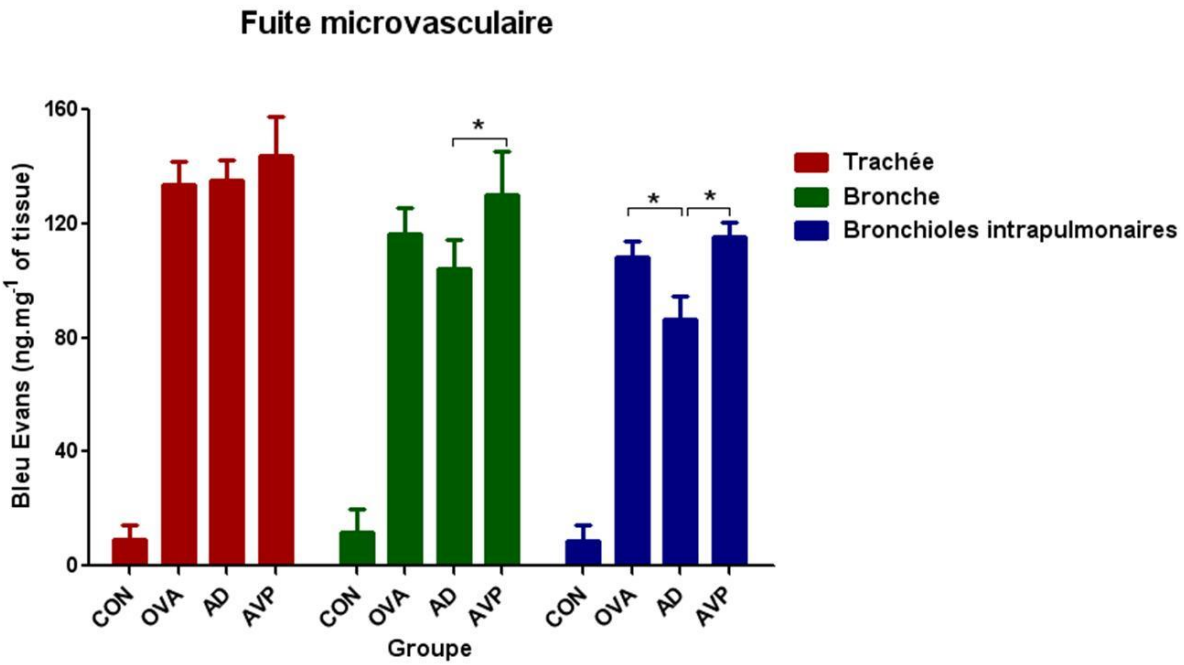
Seuls les rats OVA sont morts en 15 min. L'hypotension artérielle induite par l'anaphylaxie a été corrigée par AD ou AVP. Une augmentation significative de Rrs et Ers a été observée dans les groupe AD (Rrs: de 57.4±2.1 à 145.6±6.8hPa.s.L^{-1}, Ers: de 6386.7±486.8 à 11347.2±899.2 hPa.L^{-1}), AVP (Rrs: de 56.7±2.9 à 234.8±20.4hPa.s.L^{-1}, Ers: de 6797.1±505.3 à 18198.9±2099.3hPa.L^{-1}) et OVA (Rrs: 57.6±3.6 à 221.1±13.8hPa.s.L^{-1}, Ers: de 7411.7±637.4 à 17521.1±742.1hPa.L^{-1}) (p <0,05 vs CON, figure 1). L'AVP n'a eu aucun effet sur l'obstruction des voies respiratoires, alors que l'AD a significativement réduit l'augmentation de Rrs et Ers (p<0.001). Une hyperperméabilité vasculaire a été observée dans la trachée, des bronches, et des voies respiratoires intra-pulmonaire. L'AD a significativement réduit la fuite microvasculaire dans les bronches et bronchi intra-pulmonaire, p <0,05), alors qu'on a observé une tendance à l'augmentation de la fuite péribronchique avec l'AVP (p = 0,056 vs OVA).



Evolution de la pression artérielle moyenne (PAM, moyenne±SD), exemple d'enregistrement de la réponse de la résistance et de l'élastance respiratoire à l'injection intraveineuse d'ovalbumine, * $p \leq 0.05$.



Evolution de la résistance (Rrs) et de l'élastance repiratoire (Ers)(valeurs avant inspiration profonde). Les rats OVA sont décédés en 15min. T1-T5: intervalle de mesure = 12 min, T1 mesure avant induction du choc, Tpic: pic de réponse respiratoire. (moyenne±SD. #p<0,05 versus CON group, *p<0,05 versus AD group).



Diffusion de bleu Evans dans l'arbre respiratoire : trachée, la bronches et bronchioles intrapulmonaires). * *p≤0.05 entre les groupes*

Discussion

1). Dans ce modèle de choc anaphylactique létal, l'hypotension artérielle induite par l'anaphylaxie a été corrigée par AD ou AVP.

2). L'AD a permis de traiter le bronchospasme et de diminuer l'hyperperméabilité microvasculaire des voies respiratoires, alors qu'aucun effet sur Rrs ou Ers n'a été observé avec l'AVP, qui de plus a tendance à augmenter l'hyperperméabiité vasculaire dans les voies respiratoires.

II.1.2.3. Résultats et synthèse de la publication

Notre modèle de bronchospasme estt adapté à l'étude des différentes modalités thérapeutiques dans des modèles d'anaphylaxie induites par l'injection de venin ou l'ingestion d'aliments, situations survenant en dehors de l'hôpital, dans lesquelles la curarisation n'intervient pas. Il est bien sûr également adapté aux modèles d'anaphylaxie peranesthésique où la curarisation est souvent présente.

A notre connaissance, ce travail est le premier comparant l'effet de l'AD et de l'AVP sur l'atteinte respiratoire dans un modèle de choc anaphylactique. L'ovalbumine induit une hypotension létale, une bronchospasme sévère et une extravasation liquidienne très rapide chez l'animal préalablement sensibilisé, l'AD et l'AVP corrigent l'hypotension systémique, mais l'AD est supérieure à l'AVP pour corriger le bronchospasme et limiter la fuite microvasculaire.

La technique des oscillations permet de décomposer les variations d'impédance respiratoire : la résistance et l'élastance du système respiratoire augmentent rapidement de façon parallèle puis retournent à un état basal. L'AVP stabilise des values de l'Rrs et l'Ers à une valeur supérieure par rapport à sa valeur basale, en particulière pour l'Rrs, et s'avère donc moins performante que l'adrénaline. Ces résultats sont concordants avec le résultat de la fuite microvasculaire. L'AVP a même une tendance à augmenter la fuite microvasculaire dans les voies aériennes. Ces résultats pourraient être en rapport avec une production excessive de NO dans le groupe AVP. En effet, l'AVP peut induire la libération d'oxyde nitrique d'origine endothélial en agissant sur les récepteurs V1 endothéliaux, une production e excessive de NO majorant la perméabilité microvasculaire.

Ces résultats sont en faveur d'une utilisation préférentielle de l'AD, en particulier dans le choc anaphylactique associé à un bronchospasme.

II.2. Quel soluté de remplissage : salé hypertonique *vs* salé isotonique *vs* HES ?

II.2.1. Rationnel de l'étude :

Des analyses rétrospectives ont montré que l'adrénaline associée avec un soluté de remplissage vasculaire est le plus efficace pour la prise en charge du choc anaphylactique peranesthésique (Fisher 1986). Le remplissage vasculaire peut être réalisé par deux types de solutés : les cristalloïdes (isotoniques ou hypertoniques) et les colloïdes (naturels ou de synthèse). Jusqu'à présent, aucune étude n'a étudié quel type de soluté de remplissage est le plus efficace.

II.2.1.1.Les cristalloïdes

II.2.1.1.1.Les cristalloïdes isotoniques

Les cristalloïdes sont les plus anciens solutés utilisés pour traiter une hypovolémie.. Les solutés salés isotonique (SSI) compensent rapidement l'hypovolémie mais diffusent rapidement des secteurs intravasculaires vers le secteur interstitiel. Anisi, en cas d'hémorragie persistante, l'expansion volémique initiale par les cristalloïdes nécessite la perfusion d'un volume 5 fois supérieur au volume de sang perdu (Cervera and Moss 1975). La pression oncotique plasmatique diminuant parallèlement à l'hémorragie et la perfusion de cristalloïdes induisant une dilution, la normovolémie ne peut être maintenue que par l'augmentation de la pression hydrostatique interstitielle grâce à l'accumulation interstitielle des cristalloïdes (œdèmes). L'augmentation de la pression hydrostatique induite génère une augmentation du flux lymphatique déjà augmenté par la diminution de la pression oncotique plasmatique et crée ainsi une mobilisation de l'albumine interstitielle vers le secteur plasmatique.

II.2.1.1.2. Les cristalloïdes hypertoniques

Les complications liées à l'importance des volumes perfusés de SSI et l'efficacité expérimentale et clinique des sérums salés hypertoniques (SSH)(de Felippe, Timoner et al. 1980; Velasco, Pontieri et al. 1980) sur la survie a conduit au développement du concept de « small volume resuscitation ». Ainsi, la perfusion intraveineuse de faible volume de SSH permet une augmentation rapide de la concentration plasmatique en sodium créant un gradient

osmotique transmembranaire et donc un transfert d'eau du secteur intracellulaire ou interstitiel vers le secteur intravasculaire. D'autres mécanismes interviennent dans l'efficacité du SSH. En effet, il existe un effet inotrope positif, une activation sympathique, une activation de la vasomotricité artériolaire et une vasodilatation précapillaire. En cas d'hypovolémie grave, l'injection de 4 $mL \cdot kg^{-1}$ de SSH à 7,5 % permet une augmentation du volume plasmatique de 12 $mL \cdot kg^{-1}$ (Nakayama, Sibley et al. 1984).

II.2.1.2. Les colloïdes

Selon une revue systématique, il n'existe aucune preuve qu'une solution colloïde est plus efficace et plus sûre qu'une autre. Cependant, en plus du type de colloïde, l'administration et l'agressivité du remplissage ont un rôle important dans l'effet clinique. Les colloïdes non protéiques, e.g. les hydroxyéthyle amidons (HES), les dextrans, et les gélatines, ainsi que le colloïde naturel albumine, sont tous d'origine biologique.

II.2.1.2.1. L'albumine

L'albumine, colloïde naturel, a une synthèse exclusivement hépatique. De poids moléculaire élevé, sa très forte concentration dans le plasma lui confère un rôle prépondérant dans l'établissement de la pression oncotique plasmatique. Deux solutions d'albumine sont disponibles en France, l'une à 20 % (hyperoncotique) et l'une à 4 % (légèrement hypooncotique) mais elles sont toutes les deux isoosmolaires par rapport au plasma. L'albumine est d'origine humaine, même si le risque de contamination par des agents transmissibles non conventionnels reste plus théorique que réel, il ne peut être considéré comme nul. Le coût élevé de sa production reste son inconvénient majeur. L'albumine peut provoquer des réactions d'hypersensibilité, et l'incidence des réactions anaphylactiques est supérieure à la solution HES.

II.2.1.2.2.Les dextrans

Les dextrans sont des polymères obtenus à partir du glucose. Ils possèdent un pouvoir oncotique et un pouvoir d'expansion volémique élevé. Leur élimination est dépendante de leur poids moléculaire, ainsi la demi-vie des dextrans 60 ou 70 est de 6 à 8 heures et celle des dextrans 40 est de 3 à 4 heures. Leurs effets indésirables majeurs sont très rares mais limitent

leur utilisation. En effet, les dextrans ont des effets négatifs dose-dépendante sur l'hémostase, ils induisent une diminution de l'agrégabilité plaquettaire, des altérations tubulaires rénales et des réactions anaphylactiques sévères par formation d'anticorps de type IgG.

II.2.1.2.3. Les gélatines fluides modifiées

Elles sont obtenues à partir du collagène végétal ou animal. Elles ont un pouvoir expandeur plus faible que celui des dextrans et une durée d'action de 3 à 4 heures. Leurs effets indésirables sont limités. Il n'y a pas de limite maximale de dose, mais les réactions d'hypersensibilité provoquées par les gélatines sont plus fréquentes que celles provoquées par par les solutions HES.

II.2.1.2.4. Les hydroxyéthylamidons (HES)

Les hydroxyéthylamidons (HES) sont des solutions de polysaccharides naturels modifiés dérivés de l'amylopectine. Leurs propriétés physicochimiques et pharmacodynamiques sont dépendantes de leur degré d'hydroxyéthylation. Le poids moléculaire in vitro des HES varie de 70 à 670 kDa. Les caractéristiques physico-chimiques sont déterminées par leur concentration (solution 6% à 10%), leur poids moyen moléculaire, leur degré de substitution, et le ratio C2/C6(Jungheinrich and Neff 2005; Westphal, James et al. 2009). Le degré de substitution exprime le nombre moyen de groupes hydroxyéthyle par unité de glucose. Le rapport C2/C6 se réfère au site d'hydroxyéthylation préférentiel au niveau des atomes de carbone de la sous-unité de glucose. Habituellement, le solvant des HES est une solution saline normale, mais une solution électrolytique dite « équilibrée », avec une moindre concentration de NaCl de sérum physiologique est également disponible dans certains pays.

La classification des solutions de HES qui sont rapidement ou lentement dégradables est basée sur leurs caractéristiques physico-chimiques. In vivo, les HES de 50-70 kDa sont rapidement excrétés par les reins, et les plus grosses molécules sont hydrolysés par l'amylasee en (Jungheinrich and Neff 2005). Les solutions plus lentement dégradables d' HES peuvent s'accumuler dans le système réticulo-endothélial(Lehmann, Asskali et al. 2007). Cependant, l'accumulation des HES dans le système réticulo-endothélial ne semble pas diminuer la fonction réticulo-endothélial(Shatney and Chaudry 1984), Un prurit persistant, est un marqueur clinique de l'accumulation des préparations HES dégradables lentement. Il n'a pas

été observée chez les patients traités avec des HES 130/0.4(Sharland, Huggett et al. 1999; Morgan and Berridge 2000; Westphal, James et al. 2009).

Les doses maximales de HES varier de 20 à 50ml/kg, en fonction du type de HES. Les solutés de remplissage peuvent également être la cause d'une réaction peranesthésique. Une étude prospective a montré que HES présente un faible risque de provoquer des réactions anaphylactiques (0.058%) par rapport aux gélatines (0.345%)(Laxenaire, Charpentier et al. 1994; Mertes, Alla et al. 2011).

Tableau 3. Expansion volémique et demi-vie des principaux solutés de remplissage.

	Pouvoir d'expansion volémique (% du volume perfusé)	**Durée de l'expansion volémique (en heures)**
sérum salé isotonique	20 à 30	0,5
Ringer lactate	20 à 30	0,5
sérum salé hypertonique	700	0,5
Dextran 40	100 à 180	4 à 6
Gélatines fluides	60 à 80	3 à 4
Albumine 4 %/20 %	90/400	6 à 12
hydroxyéthylamidons	100 à 150	6 à 8
sérum salé hypertonique/ dextran	200 à 300	6 à 8

II.2.1.3. Le choc anaphylactique et les solutés de remplissage

Nous avons montré que la circulation sanguine et l'apport d'oxygène diminue dans le muscle squelettique et le cerveau au cours du choc anaphylactique (Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005; Davidson, Zheng et al. 2012). La consommation d'énergie persistante entraîné une baisse Ptio2 et l'épuisement substrat à travers la glucolyse anaérobie qui conduisent à l'échec complet de la production d'énergie cellulaire(Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2005). Par conséquent, la restauration rapide des paramètres hémodynamiques

systémiques et la perfusion microcirculatoire doivent être considérées comme des objectifs thérapeutiques optimaux.

L'adrénaline et l'administration combinée de solutés de remplissage représente la pierre angulaire du traitement du choc anaphylactique.

Le remplissage vasculaire peut être réalisé par deux types de solutés : les cristalloïdes (isotoniques ou hypertoniques) et les colloïdes (naturels ou synthétiques). Leurs propriétés physicochimiques les différencient au niveau pharmacocinétique et pharmacodynamique. Mais il n'existe aucune preuve solide pour le choix d'un type spécifique de soluté dans le traitement de l'AS. Les recommandations sont souvent basées sur des cas cliniques, des extrapolations à partir des traitements des chocs septique ou hémorragique et des protocoles institutionnels (Ebo, Hagendorens et al. 2008; Harper, Dixon et al. 2009; Mertes, Malinovsky et al. 2011). A l'heure actuelle, le recours à une solution saline isotonique est proposé en première intention pour la réanimation initiale du choc anaphylactique, suivie d'HES lorsque cela est nécessaire. L'utilisation de la gélatine n'est pas recommandée en raison de leur potentiel allergisant plus élevée (Vincent 2007; Schummer, Wirsing et al. 2008) Les solutions saline hypertoniques se sont avérées prometteuses dans un grand nombre de situations cliniques avec le développement du concept de «small volume rescucitation » (Fujiyoshi, Deitch et al. 2005; Homma, Deitch et al. 2005). Compte tenu du fait qu'un traitement rapide est essentiel pour la survie dans le choc anaphylactique (Pumphrey 2000), l'idée de recourir à ce type de soluté permettant l'administration d'un volume faible de soluté et donc une administration sur une période plus courte apparait théoriquement intéressante,

Le but de notre étude était de comparer l'efficacité des solutions saline hypertonique, saline isotonique et d'HES, associée à l'adrénaline, dans la correction des troubles de l'hémodynamique systémique et de la perfusion du muscle squelettique, a dans notre modèle de choc anaphylactique.

II.2.2. Publication

Time to target mean arterial pressure upon resuscitation of anaphylactic shock. A comparisons of epinephrine alone or associated with different volume expanders

Keiko Tajima M.D.[1*], Feng Zheng M.D.[1*], Grégoire Barthel M.D.[1,2], Olivier Collange M.D., Ph.D.[3], Simon N. Thornton Ph.D.[4], Dan Longrois M.D., Ph.D.[5], Bruno Levy M.D., Ph.D.[1,6], Gérard Audibert M.D., Ph.D.[1,2], Jean-Marc Malinovsky M.D., Ph.D.[7], Paul-Michel Mertes M.D., Ph.D.[1,3]

1 . Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

2. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Central, Nancy, France.

3. Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

4. INSERM U961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

5. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Unité INSERM U698, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

6. Service de Réanimation Médicale, Institut Lorrain du Cœur et des Vaisseaux, CHU Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy, France.

7. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU de Reims, Reims, France.

Corresponding Author: Paul-Michel Mertes, Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Phone: 33-369.55.04.44

Fax: 33-369.55.18.10

E-mail: paul-michel.mertes@chru-strasbourg.fr

*Keiko Tajima and Feng Zheng contributed equally to this study.

Running head: Time to target arterial pressure values during resuscitation of anaphylactic shock

Soumis au journal Anaesthesia and Intensive Care

ABSTRACT

OBJECTIVE: Anaphylactic shock (AS) is a rare, but potentially lethal, complication combining life-threatening circulatory failure and massive fluid shifts. Treatment guidelines rely on epinephrine and volume expansion but there is no solid evidence for this association. Our primary purpose was to compare time to target mean arterial pressure (MAP) upon resuscitation of epinephrine alone versus epinephrine with volume expansion. Our secondary purpose was to compare the efficacy on time to target MAP and tissue oxygen pressure (PtiO2) of the association of epinephrine with either hypertonic saline , isotonic saline or hydroxyethylstarch, administered at their usually recommended volume during resuscitation of AS.

METHODS: Twenty-five ovalbumin-sensitized Brown Norway rats were allocated to five groups after AS induction: vehicle (CON), epinephrine alone (EPI), isotonic saline associated with epinephrine (EPI+IS), hydroxyethyl starch associated with epinephrine (EPI+HES) and hypertonic saline associated with epinephrine (EPI+HS). Delays to reach a target MAP value of 75 mmHg, cardiac output (CO), skeletal muscle $PtiO_2$ lactate/pyruvate ratio and cumulative doses of epinephrine were recorded.

RESULTS: Non-treated (CON) rats died rapidly within 15 minutes. Target MAP value was reached faster with the association of epinephrine and HES or IS versus epinephrine alone. Among the EPI + volume expansion group, the highest and fastest increases in MAP values were obtained in the EPI+HES or EPI+IS groups and were associated with reduced epinephrine requirements. Only EPI+HES was able to restore $PtiO_2$ and preserve aerobic metabolism in skeletal muscle. Small volume resuscitation using HS was less effective than other volume expanders.

CONCLUSIONS: Our results support the combined use of epinephrine AND volume expansion for resuscitation of AS. The most effective association was EPI with HES whereas the combination with HS was the least effective.
Keywords: hydroxyethyl starch, epinephrine, shock, anaphylaxis, ischemia, microdialysis

Introduction

Anaphylactic shock (AS) is characterized by excessive vasodilatation and massive fluid shifts resulting in marked hypovolemia and systemic hypotension leading to severe tissue hypoperfusion. We have already shown that blood flow and oxygen delivery were decreased rapidly in skeletal muscle, as well as in the brain, after the onset of anaphylactic shock (1,2). Persistent energy consumption resulted in a decrease in $PtiO_2$ and substrate depletion through anaerobic glycolysis which led within minutes to complete failure of cellular energy production (1). Therefore, both rapid restoration of systemic hemodynamics and microcirculatory perfusion should be considered as optimal therapeutic goals. This is usually achieved by a combination of epinephrine and volume expansion but there is no solid evidence for this association. Furthermore, there is no solid evidence for the choice of one specific type of resuscitation fluid over another in the treatment of AS. Treatment guidelines are often based on clinical case reports, extrapolations from septic or hemorrhagic shock treatments and institutional protocols (3-5). As of now, isotonic saline (IS) is the fluid of choice for initial resuscitation after anaphylactic shock, followed by hydroxyethyl starch (HES) when necessary, whereas the use of gelatins is not supported in recent recommendations because of their higher allergic potency (6,7). Hypertonic saline (HS) has been recently shown to exhibit very promising volume expansion properties, leading to the concept of small volume resuscitation (8, 9). Given the fact that rapid treatment is crucial for survival in AS (10), there is a rationale for the use of the lowest fluid volume thus allowing the shortest period of administration.

The primary aim of our study was to compare time to target mean arterial pressure between epinephrine alone versus epinephrine with volume expansion. The secondary aim was to compare epinephrine with different volume expanders, i.e. HS, IS and HES, to correct the disturbances of systemic hemodynamics and skeletal muscle perfusion, as well as metabolism, in a model of anaphylactic shock. We used the cumulative doses of epinephrine required to reach a target mean arterial pressure (MAP) value as a proxy for volume expansion requirements because of the difficulties in directly assessing the volume-expanding capabilities of the three solutions.

Materials and Methods

Animals and Sensitization Protocol

All animal procedures and care were performed in accordance with the European Communities Council Directive of November 24, 1986(86/609/EEC). Our study was also conducted according to the official recommendation of the French Ministry of Agriculture (Paris, France) and the recommendations of Helsinki Declaration. Ten-week-old Brown Norway rats weighting 250-300g (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were used for these experiments. Animals were kept under standard conditions (temperature 21°±1°C; lights from 6 AM to 6 PM) and given a standard diet (A04; UAR, Villemoisson-sur-Orge, France) and water (Aqua-clear; Culligan, Northbrook, IL) ad libitum. Rats were sensitized by subcutaneous administration of 1mg grade VI chicken egg albumin (OVA; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and 4mg aluminum hydroxide (OHAl; Sigma, Saint-Louis, USA) diluted in 1 ml 0.9% saline solution on days 0, 4, and 14, as described previously (1,11).

Surgical procedure, measurement of hemodynamic variables, tissue oxygen partial pressure and microdialysis in skeletal muscle

The surgical procedure was performed on day 21 following sensitization. Anesthesia was induced with 3% isoflurane. The trachea was intubated and the lungs were mechanically ventilated with 100% oxygen using a Harvard Rodent respirator (model 683, Harvard Apparatus, Cambridge, MA). Tidal volume was 2.5ml and respiratory rate was adjusted to maintain $PaCO_2$ between 38 and 42 mmHg. Rectal temperature was maintained at 38±0.5°C by an intermittent heating light throughout the experiment. A fluid-filled polyethylene catheter (internal diameter or ID, 0.58mm; outer diameter or OD, 0.96mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) was inserted in the right femoral artery for pressure monitoring. Mean arterial pressure (MAP) was recorded continuously using a strain gauge pressure transducer (DA-100; Biopac Systems, Northborough, MA, USA). Another fluid-filled catheter was inserted in the right femoral vein for administration of drugs and baseline fluid infusion of $10ml.kg^{-1}.h^{-1}$ 0.9% saline solution. A thermistor catheter connected to a thermodilution cardiac output computer (Cardiomax®, Colombus Instrument, Columbus, Ohio, USA) was inserted in the left carotid artery and moved into the left ventricle for cardiac output (CO) monitoring.

A flexible Clark-type polarographic oxygen electrode (OD: 0.5 mm; length: 200mm) connected to a computer-supported Licox system (GMS, Mielkendorf, Germany) was introduced in one of the quadriceps muscles for $PtiO_2$ measurement. In the other quadriceps muscle, a liner flexible microdialysis probe (membrane, polyarylethersulfone; membrane length, 10mm; OD, 0.5mm; molecular weight cut-off, 20kd, CMA/Microdialysis AB, Solna, Sweden) was inserted as described previously (1). The probe was connected to a microinjection pump (CMA 107 Microdialysis pump, Solna, Sweden) and perfused with Ringer's solution at a flow rate of $2\mu l.min^{-1}$. Dialysate collections were started 10 minutes before shock induction with 10-minute sampling periods. All samples were collected in microtubes and analyzed by the CMA 600 microdialysis analyser (CMA 600, Solna, Sweden).

Induction of shock and treatment with volume expansion and epinephrine

After a twenty minute stabilization period, animals were randomly assigned to 5 different groups. Except for the non-treatment group that received ovalbumin alone (CON), all the other animals were resuscitated with epinephrine alone (EPI) or epinephrine associated with three different volume expanders: 1) isotonic saline solution $30ml.kg^{-1}$ (EPI + IS); 2) hydroxyethyl starch solution (HES130/0.4; VOLUVEN®, Fresenius Kabi, Louviers, France) 20 $ml.kg^{-1}$ (EPI+HES); 3) Hypertonic sodium chloride solution (7.5%) $4ml.kg^{-1}$ (EPI+ HS). The volume of fluid infused was chosen according to the most recent guidelines published in the field of anaphylaxis which recommend different volumes of infusion based on their different volume expansion capacity (3, 12).

Anaphylactic shock was induced by intravenous injection of 1mg of ovalbumin (T0). The first bolus of 2.5µg of epinephrine was injected three minutes after shock induction (T3) and a second bolus was injected at 5 minutes (T5). Then, owing to the severity of our model, a continuous infusion of epinephrine $10\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$ was initiated, as this is usually recommended in most guidelines as an alternative to repeated bolus administration. When MAP reached to the target value of 75 mmHg and remained stable during a 10-minute period, the infusion rate of epinephrine was progressively decreased (after completion of fluid expansion in all groups). Fluid resuscitation was initiated immediately after the first bolus

injection of epinephrine. Using an electronic infusion pump, perfusion rate of the volume expander was maintained at 1ml.min^{-1} (about 4 ml.kg^{-1}.min^{-1}).

In all animals, MAP, CO and $PtiO_2$ in skeletal muscle were recorded at different time points: T0 (prior to shock induction), T1 (1 minute after shock induction), T2.5, T5, T7.5, T10, T12.5, T15 then every 5 minutes until the end of experiment. Blood gas analysis was performed in each animal before shock induction and at the end of the experiment.

Statistical Analysis

Data were analyzed with the Statview 5.0 software (Deltasoft, Meylan, France). Results are expressed as mean ± SEM. Intergroup differences were tested by the non-parametric Kruskal-Wallis test. When a significant difference was detected, *post-hoc* analysis was performed with the Bonferroni post-test correction method.

For each animal, the time to target mean arterial pressure (75mmHg) was recorder and expressed as median (min-max). Significance was assumed when $p<0.05$.

Results

Twenty-five ovalbumin-sensitized Brown Norway rats were randomly allocated in five groups. For all measured variables, baseline values in the five groups did not differ significantly during the stabilization period. As animals from the CON group died within 15minutes, data from microdialysis and plasma biochemistry were not obtained from this group.

In this model of lethal anaphylactic shock, the rats in the CON group died within 15mins whereas all treatments were able to extend survival time. Time course profiles for MAP (Figure 1A) were different among the groups. After shock induction, MAP decreased similarly in all groups. From T5 onwards MAP increased progressively but in a different manner according to the treatment. With EPI alone, time to target MAP value was significantly longer (median: 25min, range: 20-30min) as compared to all other EPI + volume expansion groups except for the EPI + HS (median: 30 min, range: 20-60min). A MAP of 75 mmHg was achieved with EPI+HES at 10 min, followed by EPI+IS at 17.5 min, EPI at 25 min and EPI+HS at 30 min(figure 2). The MAP response to epinephrine was significantly

higher in EPI+HES from T15 (onset of decrease of epinephrine infusion rate) to T30 minutes as compared with other treatment groups (p<0.05, figure 1A). Cumulative epinephrine doses were significantly lower in EPI+HES and EPI+IS compared to EPI and EPI+HS. The MAP response to epinephrine could therefore be classified in order of potency: EPI+HES > EPI+IS > EPI > EPI+HS (Figure 4).

In all treated groups, CO decreased to 40% of baseline values within 3minutes. A rapid and significant increase in CO (Figure 1B) was observed after volume expansion with EPI+IS and EPI+HES. CO recovery was 90 % and 60 % of basal values respectively but the time course profile did not differ statistically. A slower increase was observed in the EPI group, reaching 60% of baseline at 35 min, whereas CO remained stabilized at 50% of basal in the EPI+HS group.

$PtiO_2$ values (Figure 3A) decreased immediately after the induction of shock, then time course profiles differed according to treatment groups. $PtiO_2$ values in the EPI+HES group increased up to 90% of baseline values by 20min then progressively decreased to 60% of baseline. In the EPI+IS and EPI groups, the decrease of $PtiO_2$ reached a plateau at 30 % and 15% of baseline, respectively. A continuous decrease was observed in the EPI+HS group, resulting in $PtiO_2$ values almost at zero by the end of the experiment. A progressive increase in lactate/pyruvate ratios was observed in all treatment groups, however the increase was more limited in the EPI+HES group (Figure 3B).

Continuous infusion of epinephrine 10 $\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$ was initiated immediately after the first bolus and maintained to allow MAP values to reach 75mmHg in all treated groups. When the MAP goal was reached and had remained stable during a 10-min period, the epinephrine infusion rate was progressively decreased to avoid excessive increase in MAP values (Figure 4). The perfusion rate in the EPI+HES group and EPI+IS group was progressively decreased from 15min and 20 min after the onset of anaphylactic shock. The cumulative doses of epinephrine in the EPI+HES (131.9±10.4 µg) and in the EPI+IS (141.9±6.8 µg) groups were significantly lower than in the EPI+HS (163.6±7.9 µg) and EPI (165.3±2.4 µg) groups.

The time courses of the main biochemical and hematology variables are summarized in Table 1. Following shock induction, the concentration of hemoglobin increased in all

treatment groups, however this increase was higher in the EPI group (P<0.05). At the end of experiment, the concentration of chloride and sodium ions were significantly increased in the EPI+HS group. The concentrations of lactate were significantly increased except in the EPI+IS group and the glucose were significantly increased in the EPI+HES group compared to the other groups.

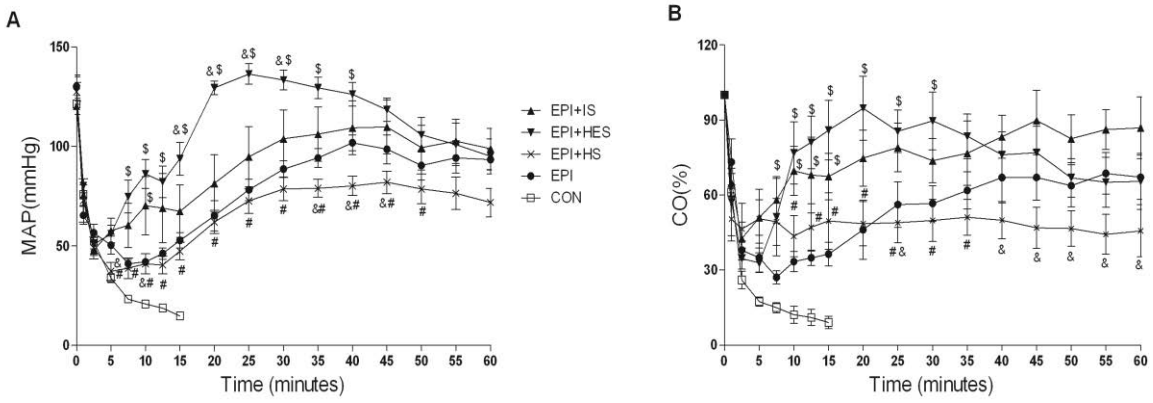


Figure 1: Time course of systemic hemodynamic variables: mean arterial pressure (MAP) (A) and cardiac output (CO) (B) in the no volume expansion (EPI), normal saline (EPI+IS), hydroxyethyl starch (EPI+HES), hypertonic saline (EPI+HS) and non-treated (CON) groups. Time 0 corresponds to the injection of ovalbumin (the induction of shock). Upright triangles: EPI+IS group; inverted triangles: EPI+HES group; cross: EPI+HS group; black circles: EPI group; white squares: CON group. Results are expressed as mean ± SEM. \$$p$≤0.05 *vs* group EPI, &$p$≤0.05 *vs* group EPI+IS, #p≤0.05 *vs* group EPI+HES.

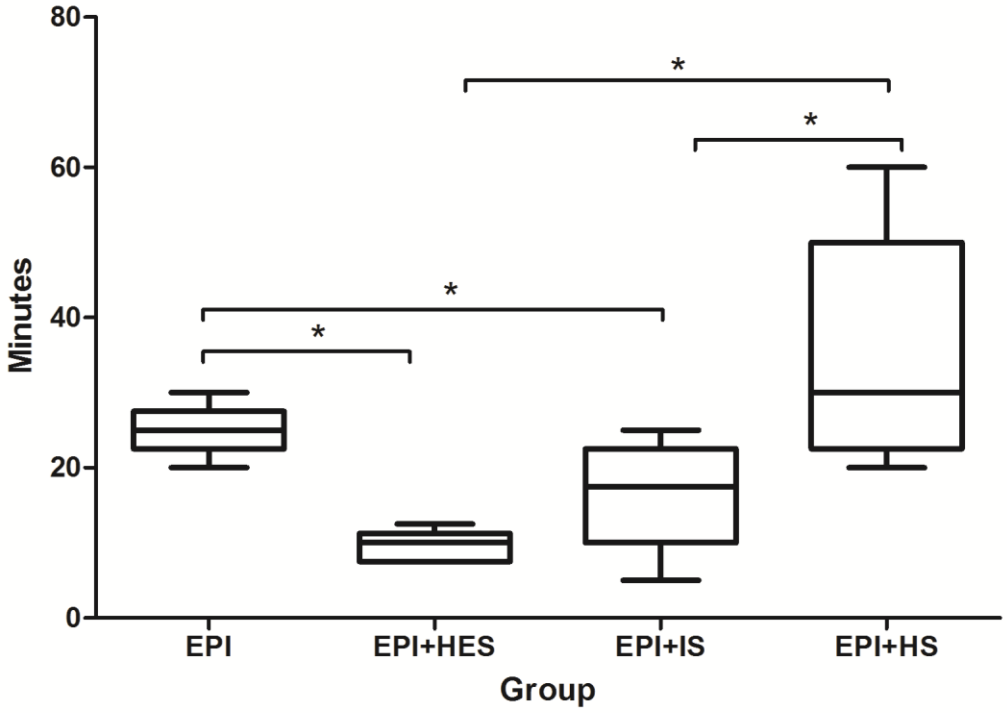
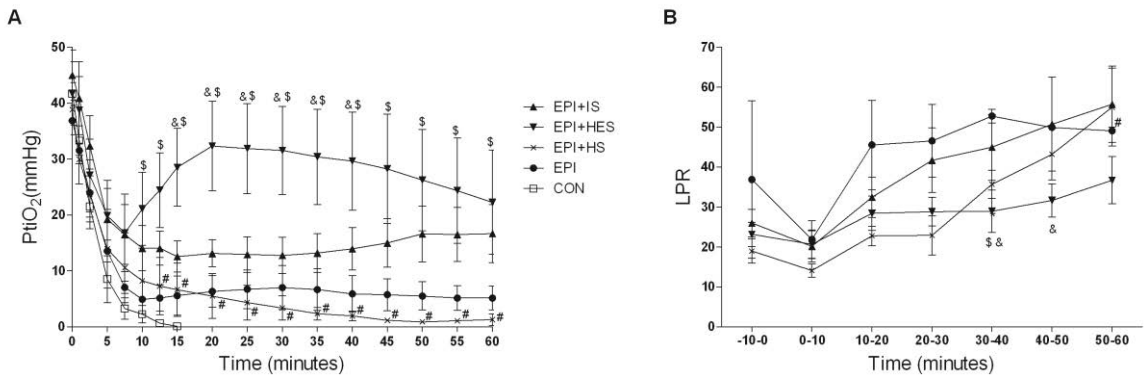


Figure 2: Time to target mean arterial pressure were presented in the no volume expansion (EPI), normal saline (EPI+IS), hydroxyethyl starch (EPI+HES), hypertonic saline (EPI+HS) and non-treated (CON) groups. Because all rats in the CON group died within 15 minutes, the data of LPR was not used. Results are expressed as median (min-max). * $p \leq 0.05$ between groups.



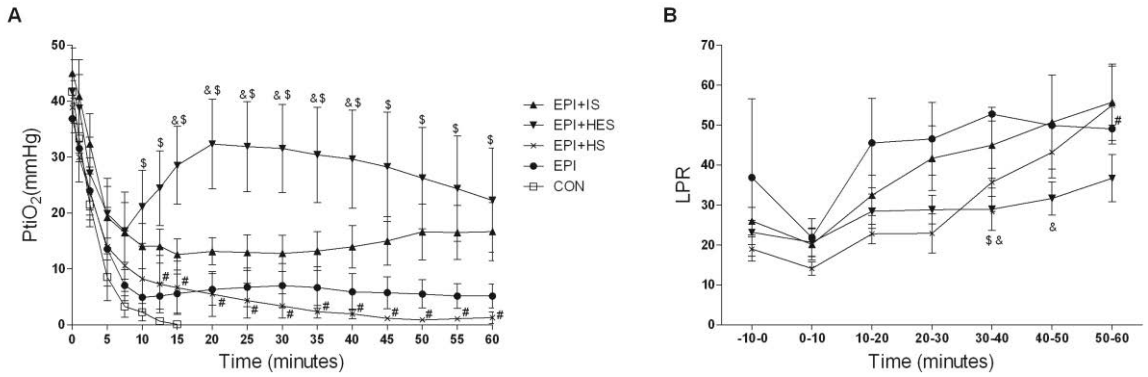


Figure 3: Time course of PtiO2 and metabolic variables in skeletal muscle: PtiO2 (A) and lactate/pyruvate ratios (LPR) (B) in the no volume expansion (EPI), normal saline (EPI+IS), hydroxyethyl starch (EPI+HES), hypertonic saline (EPI+HS) and non-treated (CON) groups. Time 0 corresponds to the injection of ovalbumin (the induction of shock). Because all rats in the CON group died within 15 minutes, the data of LPR was not used. Upright triangles: EPI+IS group; inverted triangles: EPI+HES group; cross: EPI+HS group; black circles: EPI group; white squares: CON group. Results are expressed as mean ± SEM. $\$p \leq 0.05$ *vs* group EPI, $\&p \leq 0.05$ *vs* group EPI+IS, $\#p \leq 0.05$ *vs* group EPI+HES.

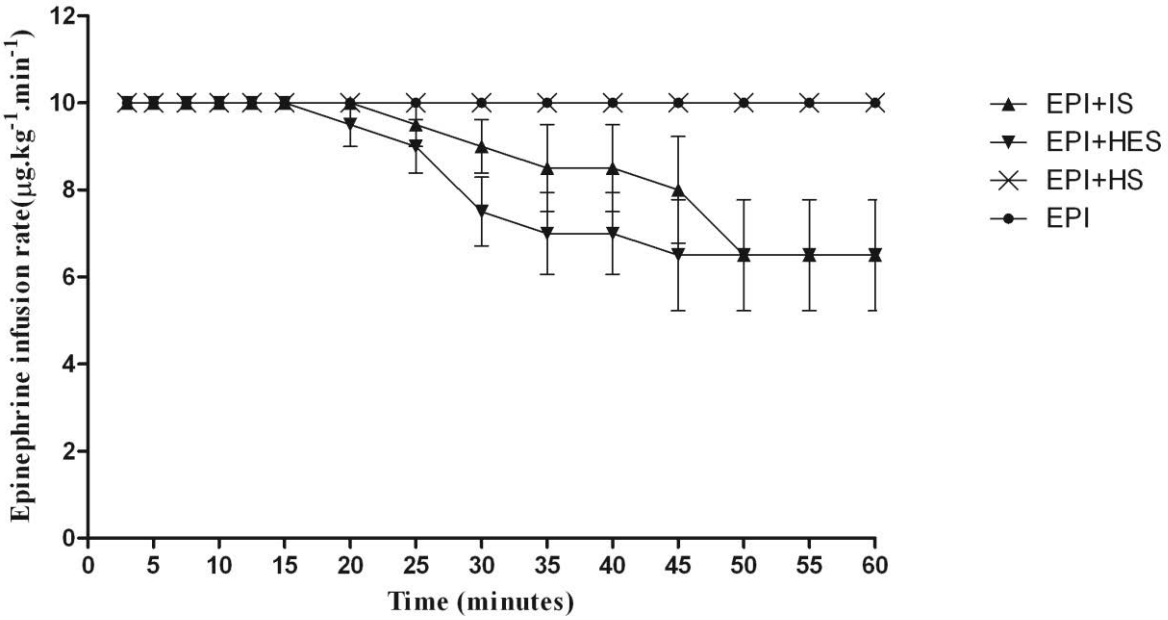


Figure 4: Time course of the continuous infusion rate of epinephrine the no volume expansion (EPI), normal saline (EPI+IS), hydroxyethyl starch (EPI+HES) and hypertonic saline (EPI+HS) groups. Time 0 corresponds to the injection of ovalbumin (the induction of shock). Upright triangles: EPI+IS group; inverted triangles: EPI+HES group; cross: EPI+HS group; black circles: EPI group; white squares: CON group. Results are expressed as mean ± SEM.

Table1: Biochemistry and hematology variables

Group		EPI	EPI+IS	EPI+HES	EPI+HS
pH	T0	7.38±0.01	7.39±0.04	7.44±0.04	7.41±0.03
	T0+60	7.06±0.07[d]	7.16±0.01[d]	7.04±0.15[d]	6.94±0.03 [d]
$PaCO_2$ (mmHg)	T0	37.8±2.4	40.1±2.5	35.2±1.2	34.8±1.2
	T0+60	52±5.7	53±3.6[d]	60.8±7.3[d]	50.7±6.6
Hemoglobin (g/dL)	T0	12.7±0.3	13.5±0.8	12.1±0.5	11.9±0.7
	T0+60	15.4±0.4[d]	14.8±0.7	14.5±1.1	14.0±3.0
Lactate (mmol/L)	T0	2.2±0.1	2.8±0.1	2.2±0.6	2.3±0.3
	T0+60	5.3±1.0[d]	3.1±0.4[a]	7.6±3.8[d]	11.7±3.3[d]
Glucose mg/dL	T0	244±33	276±34	220±58	216±25
	T0+60	240±43	284±28	411±31[abd]	140±57
Sodium (mEq/L)	T0	135.2±1.0	132.5±1.0	130.0±4.3	136.3±1.2
	T0+60	139.2±1.0[ad]	134.3±0.3[a]	137.4±1.5[a]	146.0±8.1[d]
Chloride (mEq/L)	T0	110.2±1.8	109.3±0.5	111.0±0.9	111.0±2.1
	T0+60	117.0±1.1[ad]	119.3±0.9[ad]	122.8±3.6[ad]	132.0±2.6[bd]

Time 0 corresponds to the injection of ovalbumin. All biochemistry and hematology variables were measured in arterial blood. Values are presented as mean±SEM. Because all rats in the CON group died within 15 minutes, the data was not used. [a]$p \leq 0.05$ *vs* EPI+HS group, [b]$p \leq 0.05$ *vs* EPI group, [c]$p \leq 0.05$ *vs* EPI+IS group, [d]$p \leq 0.05$ *vs* T0.

Discussion

This appears to be the first report to evaluate the efficacy of epinephrine alone versus epinephrine with volume expansion in terms of rapidity and amplitude of macro and micro-hemodynamic correction upon resuscitation of anaphylactic shock. Furthermore, when epinephrine was associated with different volume expanders, hypertonic saline was associated with highly deleterious effects on tissue oxygenation. Interestingly, (i) IS and HES were equally fast and faster than HS to reach the target MAP value and increase cardiac output; (ii) epinephrine requirements to preserve MAP values of 75 mmHg were reduced with IS and HES; (iv) only EPI+HES restored $PtiO_2$ and preserved aerobic metabolism in skeletal muscle. These results underline clearly not only the importance of volume expansion, in addition to

epinephrine in the treatment of anaphylactic shock, but also the importance of the nature of the volume expander administered.

Several methodological issues deserve more detailed explanations. The first concerns the fact that modified fluid gelatins were not investigated in the present study. Epidemiologic studies have showed that HES was at low risk of causing anaphylactic reactions (0.058%) compared with gelatins (0.345%) (13, 14). Therefore, gelatins have been excluded in recent European guidelines which favor the use of HES in anaphylaxis (3).

The second concerns the volumes of the different volume expanders that were investigated. It was recently shown, in septic patients, that hemodynamic resuscitation was faster after volume expansion with HES than with isotonic saline (15). The volume of fluid that should be infused for anaphylactic shock resuscitation remains poorly defined in the literature. The necessary volume of saline is either not mentioned (5) or varies between 20 ml/kg (16) and 30 ml/kg (3). Some authors even recommend volume of fluids as high as 50 ml/kg, a goal that may be difficult to achieve in a limited period of time (17). We chose a median dose of 30 ml/kg of saline. As recent studies in septic shock have emphasized that volume equivalence of HES may be far less than previously thought (with a ratio crystalloid/colloid volume between 1.2 and 1.5) (15, 18), therefore we chose a volume of HES of 20 ml/kg. The volume of 4 ml/kg for HS has been the most studied for this solution (9 ,19, 20) and is the upper limit for use in many countries including France. Because the volume expanding equivalences are difficult to handle and because resuscitation of anaphylactic shock is performed with a combination of epinephrine and volume expansion, we chose a pragmatic design by (i) estimating the efficiency of resuscitation on time to target MAP (a clinically available hemodynamic goal); (ii) evaluating the efficacy of different combinations of epinephrine and volume expanders on both hemodynamic goals (e.g. cardiac output and skeletal muscle oxygenation) and the requirements of cumulative epinephrine doses (once again a clinically available goal). Finally, for the reasons detailed above, this work is NOT a comparison of volume expansion capabilities of the different studied solutions.

Resuscitation with HES and epinephrine resulted in the shortest delay to reach the target MAP value and in the most rapid correction of systemic hemodynamics and skeletal muscle microcirculation. The increased skeletal muscle $PtiO_2$ values in the EPI+HES group were most likely caused by the increase in intravascular volume, cardiac output and skeletal

microvascular perfusion. Indeed, it has been demonstrated that HES had a therapeutic advantage by exerting an inhibitory effect on the local ischemia-reperfusion-induced and on systemic leukocyte reactions and the post ischemic microvascular dysfunction (21, 22).

Epinephrine has been considered useful in the treatment of anaphylactic shock since as early as 1925 (23) and retrospective analyses have indicated that epinephrine and volume expansion are effective treatments for anaphylaxis occurring under anesthesia (24-26). A relatively high dose of epinephrine was chosen for bolus administration in this study. This dose was determined according to dose response curves previously established in this model (11). However, high catecholamine concentrations (either therapeutic or due to endogenous release) can have adverse cardiovascular consequences, including direct catecholamine-induced myocardial dysfunction (27, 28), increased myocardial workload resulting from increased after load, ischemic chest pain (in awake patients) and ECG changes consistent with myocardial ischemia in the absence of documented coronary artery disease (29). Our experimental design corresponded to a situation where the possibility to decrease the infusion rates of epinephrine (once the target MAP of 75 mmHg had been reached) indicated the restoration of circulating volume. The observed reduction in epinephrine infusion rates adds further support to the use of HES in the treatment of anaphylaxis.

In this model of lethal anaphylactic shock, HES was significantly more efficient than HS when combined with epinephrine administration. This is consistent with other studies in hypovolemic shock that have demonstrated lower tissue oxygenation upon resuscitation with HS (30-32). Our initial hypothesis was that HS could be of potential interest during anaphylactic shock because it was associated with a smaller volume load and thus would have allowed more rapid correction of the hemodynamic abnormalities. Indeed, it has been reported previously that each milliliter of HS administered mobilizes an additional 7ml of free water from the interstitial and intracellular spaces respectively into the intravascular compartment (33). However, the infused volume of HS solution should be limited because of the possibilities of hypernatremia and hyperchloremia (34).

In our model, 4 ml/ kg of HS resulted in significantly longer durations to reach the target MAP values and did not restore CO or correct skeletal muscle hypoxia. Skeletal muscle hypoxia (sharp decrease of $Ptio_2$) and hypoperfusion without inhibition of cellular metabolism, resulted in anaerobic glycolysis, followed by depletion of substrates (1), as

confirmed by the LPR and the concentration of glucose in our study (Figure 2 and Table 1). Four ml/kg HS may be an insufficient volume to increase intravascular volume by itself. Moreover, the increased permeability of the microcirculation probably limited the osmotic effect of hypertonic crystalloid and colloid solutions because plasma molecules are lost to the interstitial compartment (35). This effect is probably more pronounced for small crystalloid molecules than for large colloid molecules. The lack of correction of the increased hemoglobin values in the EPI+HS group (as compared to intragroup baseline values and to the other groups) clearly supports this interpretation (Table 1).

In addition, it is possible that HS could have additional detrimental effects. One of them could be related to the high chloride load, as illustrated in Table 1. Hyperchloremia, produces acidosis by increasing the plasma chloride concentration relative to the plasma sodium concentration (36). This was the case in our experiments in which the EPI+HS group had the lowest pH values associated with hypernatremia. The resulting hyperchloremic acidosis can lead to a decrease in cardiac contractility (37-41). HS has also been reported to decrease systemic vascular resistance (42-44). This effect may be interesting in hypovolemeic shock where systemic vascular resistance is high. However, in the setting of severe vasodilatation, the decrease in cardiac afterload induced by HS may partially offset the benefit of volume expansion. This could explain the delayed and limited increase in MAP and CO we observed when compared with the other treatment groups (Figure 1A).

Within the time frame of this experiment, IS was expected to have a slightly lower volume expansion effect compared to HES (45). Nevertheless, the differences in cardiac output (Figure 1 B) were minimal between EPI+IS and EPI+HES groups. Despite this, the EPI+IS group was characterized by lower initial MAP and $PtiO_2$ values. The lower lactate values in animals resuscitated with EPI+IS (as compared to EPI+HES) could be due to lack of skeletal muscle reperfusion as suggested by the persistence of low $PtiO_2$ values, combined with decreased glycolysis, as previously demonstrated by our group (1). On the contrary, the larger increase in circulating lactate values observed in the EPI+HES group may result from a more efficient skeletal muscle reperfusion as well as from restored glycolysis.

Our study has several limitations. First of all, any extrapolation of our results obtained in this severe experimental model of anaphylactic shock to clinical practice should be performed with caution. However, one should also consider that present guidelines

concerning the treatment of anaphylactic shock rely mainly on expert advice in the absence of any available controlled experimental or clinical studies. We chose to infuse different volumes at the same rate, leading to different infusion durations. First, all infusions of volume expanders were terminated at the tenth minute, a small delay as compared with our experiment duration. Second, one of the major interests of isotonic saline alternatives is precisely to shorten infusion duration (15). Therefore, it was not considered appropriate to standardize this duration.

Conclusion

Our results demonstrate that with volume used in routine clinical practice upon resuscitation of anaphylactic shock, the fastest correction of macro- and micro-hemodynamics is achieved when epinephrine is associated with volume expansion. In a pragmatic design that did not compare the volume expansion capabilities of different volume expanders, the fastest improvement was observed when epinephrine was associated with HES. Hypertonic saline is not appropriate for treatment of anaphylactic shock, from these experiments, a clinical trial could be conceived comparing HES to IS in humans with anaphylactic shock occurring during anesthesia.

Acknowledgments

We are indebted to Chantal Montémont for technical assistance. This work was supported by the Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM, Faculté de Médecine, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France.

References

1. Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Franck P, Menu P, de Talance N, Zannad F, Laxenaire MC, Longrois D, Mertes PM: Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption. Anesthesiology 2005, 103(1):40-49.

2. Davidson J, Zheng F, Tajima K, Barthel G, Alb I, Tabarna A, Thornton SN, Lambert M, Longrois D, Audibert G *et al*: Anaphylactic shock decreases cerebral blood flow more than what would be expected from severe arterial hypotension. *Shock* 2012, 38(4):429-435.

3. Mertes PM, Malinovsky JM, Jouffroy L, Aberer W, Terreehorst I, Brockow K, Demoly P: Reducing the risk of anaphylaxis during anesthesia: 2011 updated guidelines for clinical practice. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2011, 21(6):442-453.

4. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ: Scandinavian Clinical Practice Guidelines on the diagnosis, management and follow-up of anaphylaxis during anaesthesia: some diagnostic issues. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008, 52(2):314-315.

5. Harper NJ, Dixon T, Dugue P, Edgar DM, Fay A, Gooi HC, Herriot R, Hopkins P, Hunter JM, Mirakian R *et al*: Suspected anaphylactic reactions associated with anaesthesia. *Anaesthesia* 2009, 64(2):199-211.

6. Vincent JL: Fluid resuscitation: colloids vs crystalloids. *Acta Clin Belg Suppl* 2007(2):408-411.

7. Schummer C, Wirsing M, Schummer W: The pivotal role of vasopressin in refractory anaphylactic shock. *Anesth Analg* 2008, 107(2):620-624.

8. Fujiyoshi N, Deitch EA, Feketeova E, Lu Q, Berezina TL, Zaets SB, Machiedo GW, Xu DZ, Hasko G: Amiloride combined with small-volume resuscitation with hypertonic saline is superior in ameliorating trauma-hemorrhagic shock-induced lung injury in rats to the administration of either agent alone. *Crit Care Med* 2005, 33(11):2592-2598.

9. Homma H, Deitch EA, Feketeova E, Lu Q, Berezina TL, Zaets SB, Machiedo GW, Xu DZ: Small volume resuscitation with hypertonic saline is more effective in ameliorating trauma-hemorrhagic shock-induced lung injury, neutrophil activation and red blood cell dysfunction than pancreatitic protease inhibition. *J Trauma* 2005, 59(2):266-272.

10. Pumphrey RS: Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000, 30(8):1144-1150.

11. Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Lartaud I, Bello G, de Talance N, Longrois D, Mertes PM: Comparison of arginine vasopressin, terlipressin, or epinephrine to correct hypotension in a model of anaphylactic shock in anesthetized brown Norway rats. *Anesthesiology* 2006, 104(4):734-741.

12. Lieberman P, Nicklas RA, Oppenheimer J, Kemp SF, Lang DM, Bernstein DI, Bernstein JA, Burks AW, Feldweg AM, Fink JN *et al*: The diagnosis and management of anaphylaxis practice parameter: 2010 update. *J Allergy Clin Immunol* 2010, 126(3):477-480 e471-442.

13. Laxenaire MC, Mertes PM: Anaphylaxis during anaesthesia. Results of a two-year survey in France. *Br J Anaesth* 2001, 87(4):549-558.

14. Mertes PM, Alla F, Trechot P, Auroy Y, Jougla E: Anaphylaxis during anesthesia in France: an 8-year national survey. *J Allergy Clin Immunol* 2011, 128(2):366-373.

15. Guidet B, Martinet O, Boulain T, Philippart F, Poussel JF, Maizel J, Forceville X, Feissel M, Hasselmann M, Heininger A *et al*: Assessment of hemodynamic efficacy and safety of 6% hydroxyethylstarch 130/0.4 vs. 0.9% NaCl fluid replacement in patients with severe sepsis: The CRYSTMAS study. *Crit Care* 2012, 16(3):R94.

16. Kroigaard M, Garvey LH, Gillberg L, Johansson SG, Mosbech H, Florvaag E, Harboe T, Eriksson LI, Dahlgren G, Seeman-Lodding H *et al*: Scandinavian Clinical Practice Guidelines on the diagnosis, management and follow-up of anaphylaxis during anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007, 51(6):655-670.

17. Fisher MM: Clinical observations on the pathophysiology and treatment of anaphylactic cardiovascular collapse. *Anaesth Intensive Care* 1986, 14(1):17-21.

18. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, Billot L, Cass A, Gattas D, Glass P, Lipman J, Liu B, McArthur C *et al*: Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N Engl J Med* 2012, 367(20):1901-1911.

19. Yu G, Chi X, Hei Z, Shen N, Chen J, Zhang W, Li S: Small volume resuscitation with 7.5% hypertonic saline, hydroxyethyl starch 130/0.4 solution and hypertonic sodium chloride hydroxyethyl starch 40 injection reduced lung injury in endotoxin shock rats: comparison with saline. *Pulm Pharmacol Ther* 2012, 25(1):27-32.

20. Shih CC, Chen SJ, Chen A, Wu JY, Liaw WJ, Wu CC: Therapeutic effects of hypertonic saline on peritonitis-induced septic shock with multiple organ dysfunction syndrome in rats. *Crit Care Med* 2008, 36(6):1864-1872.

21. Sun HJ, Li H, Zou Z, Shi XY: Protective effects of hydroxyethyl starch 130/0.4 against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Chin Med J (Engl)* 2011, 124(2):291-297.

22. Varga R, Torok L, Szabo A, Kovacs F, Keresztes M, Varga G, Kaszaki J, Boros M: Effects of colloid solutions on ischemia-reperfusion-induced periosteal microcirculatory and inflammatory reactions: comparison of dextran, gelatin, and hydroxyethyl starch. *Crit Care Med* 2008, 36(10):2828-2837.

23. Braun LIB: Notes on desensitisation of a patient hypersensitive to bee stings. *South African Medical Record* 1925, 23:408-409.

24. Brown SG: Cardiovascular aspects of anaphylaxis: implications for treatment and diagnosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005, 5(4):359-364.

25. Mertes PM, Tajima K, Regnier-Kimmoun MA, Lambert M, Iohom G, Gueant-Rodriguez RM, Malinovsky JM: Perioperative anaphylaxis. *Med Clin North Am* 2010, 94(4):761-789, xi.

26. Pajno GB, Crisafulli G, Caminiti L, Marseglia GL, Cardinale F, Paravati F, Caffarelli C: Perioperative allergy: therapy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011, 24(3 Suppl):S101-104.

27. Kloner RA: Natural and unnatural triggers of myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis* 2006, 48(4):285-300.

28. von Kanel R, Mills PJ, Ziegler MG, Dimsdale JE: Effect of beta2-adrenergic receptor functioning and increased norepinephrine on the hypercoagulable state with mental stress. *Am Heart J* 2002, 144(1):68-72.

29. Wittstein IS, Thiemann DR, Lima JA, Baughman KL, Schulman SP, Gerstenblith G, Wu KC, Rade JJ, Bivalacqua TJ, Champion HC: Neurohumoral features of myocardial stunning due to sudden emotional stress. *N Engl J Med* 2005, 352(6):539-548.

30. Braz JR, do Nascimento P, Jr., Paiva Filho O, Braz LG, Vane LA, Vianna PT, Rodrigues GR, Jr.: The early systemic and gastrointestinal oxygenation effects of hemorrhagic shock resuscitation with hypertonic saline and hypertonic saline 6% dextran-70: a comparative study in dogs. *Anesth Analg* 2004, 99(2):536-546, table of contents.

31. Gong W, Marks JA, Sanati P, Sims C, Sarani B, Smith DH, Pascual JL: Hypertonic saline resuscitation of hemorrhagic shock does not decrease in vivo neutrophil interactions with endothelium in the blood-brain microcirculation. *J Trauma* 2011, 71(2):275-281; discussion 281-272.

32. Legrand M, Mik EG, Balestra GM, Lutter R, Pirracchio R, Payen D, Ince C: Fluid resuscitation does not improve renal oxygenation during hemorrhagic shock in rats. *Anesthesiology* 2010, 112(1):119-127.

33. Reed RL, 2nd, Johnston TD, Chen Y, Fischer RP: Hypertonic saline alters plasma clotting times and platelet aggregation. *J Trauma* 1991, 31(1):8-14.

34. Velasco IT, Rocha e Silva M, Oliveira MA, Silva RI: Hypertonic and hyperoncotic resuscitation from severe hemorrhagic shock in dogs: a comparative study. *Crit Care Med* 1989, 17(3):261-264.

35. Raghunathan K, McGee WT, Higgins T: Importance of intravenous fluid dose and composition in surgical ICU patients. *Curr Opin Crit Care* 2012, 18(4):350-357.

36. Prough DS, White RT: Acidosis associated with perioperative saline administration: dilution or delusion? *Anesthesiology* 2000, 93(5):1167-1169.

37. Acharya G, Rasanen J, Makikallio K, Erkinaro T, Kavasmaa T, Haapsamo M, Mertens L, Huhta JC: Metabolic acidosis decreases fetal myocardial isovolumic velocities in a chronic sheep model of increased placental vascular resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008, 294(1):H498-504.

38. Clanachan AS: Contribution of protons to post-ischemic Na(+) and Ca(2+) overload and left ventricular mechanical dysfunction. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006, 17 Suppl 1:S141-S148.

39. Minami H, Wolska BM, Stojanovic MO, Solaro RJ: Reversal of effects of acidosis on contraction of rat heart myocytes by CGP-48506. *Front Biosci* 2008, 13:5638-5645.

40. Palpant NJ, D'Alecy LG, Metzger JM: Single histidine button in cardiac troponin I sustains heart performance in response to severe hypercapnic respiratory acidosis in vivo. *FASEB J* 2009, 23(5):1529-1540.

41. Zheng M, Hou R, Xiao RP: Acidosis-induced p38 MAPK activation and its implication in regulation of cardiac contractility. *Acta Pharmacol Sin* 2004, 25(10):1299-1305.

42. Gazitua S, Scott JB, Swindall B, Haddy FJ: Resistance responses to local changes in plasma osmolality in three vascular beds. *Am J Physiol* 1971, 220(2):384-391.

43. Goertz AW, Mehl T, Lindner KH, Rockemann MG, Schirmer U, Schwilk B, Georgieff M: Effect of 7.2% hypertonic saline/6% hetastarch on left ventricular contractility in anesthetized humans. *Anesthesiology* 1995, 82(6):1389-1395.

44. Sirieix D, Hongnat JM, Delayance S, D'Attellis N, Vicaut E, Berrebi A, Paris M, Fabiani JN, Carpentier A, Baron JF: Comparison of the acute hemodynamic effects of hypertonic or colloid infusions immediately after mitral valve repair. *Crit Care Med* 1999, 27(10):2159-2165.

45. Svensen C, Hahn RG: Volume kinetics of Ringer solution, dextran 70, and hypertonic saline in male volunteers. *Anesthesiology* 1997, 87(2):204-212.

II.2.3. Résultats et synthèse de la publication

A notre connaissance, notre étude est le premier travail comparant les trois solutés de remplissage en association à avec l'AD pour traiter le choc anaphylactique

L'objectif du traitement d'un choc anaphylactique concerne la régression la plus rapide possible des signes cliniques d'hypovolémie et l'augmentation de la délivrance en oxygène aux tissus, authentifiées par la correction d'une acidose lactique et d'une hypotension artérielle lorsqu'elles sont présentes et par une normalisation des débits régionaux qui peut se traduire par exemple au niveau muscle squelettique par une restauration de la pression tissulaire en oxygène. Nous avons donc observé la vitesse de restauration des paramètres macro-hémodynamiques et en particulier d'atteinte de la pression artérielle moyenne cible, la quantité d'adrénaline nécessaire à l'obtention de ces valeurs cibles, et l'évolution de la perfusion et le métabolisme d'oxygène du muscle squelettique selon la combinaison thérapeutique utilisée.

Nos résultats démontrent que, la correction rapide des anomalies macro- et micro-hémodynamique est obtenue lorsque l'AD est associée à une expansion volémique. L'amélioration des paramètres systémiques et régionaux la plus rapide est observée lors de l'association de l'AD à l'HES, alors que l'utilisation d'une solution saline hypertonique n'est pas approprié au traitement du choc anaphylactique.

II.3. Quel adjuvant : le bleu du méthylène ?

II.3.1.Les inhibiteurs de la voie du NO et choc anaphylactique :

Différents inhibiteurs de la voie du NO ont été étudiés dans le cadre du choc anaphylactique avec souvent des résultats contradictoires, selon l'espèce considérée, l'inhibiteur utilisé ou encore la sévérité du choc anaphylactique étudié(Buzato, Viaro et al. 2005).

II.3.1.1. Inhibiteurs de la voie du NO :

On peut distinguer les inhibiteurs de la NOS (analogues compétitifs de la L-arginine) et les inhibiteurs de la guanylate cyclase (bleu de méthylène et 1H-oxadiazole quinoxalin-1-one (ODQ)).

Parmi les inhibiteurs des NOS, il existe un inhibiteur non spécifique, inhibant les 3 isoformes, le N-nitro-L-arginine-méthyl ester (L-NAME), et des inhibiteurs partiellement spécifiques : le 7-nitroindazole (7-NI) inhibant la NOS neuronale et l'aminoguanidine (AG) inhibant la NOS inductible (Tableau 4).

Tableau 4 :Résumé des actions des inhibiteurs de la voie du NO.

Molécule	Action
N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)	Inhibiteur non sélectif NOS
7 nitroindazole (7-NI)	Inhibiteur partiellement sélectif NOS neuronale
aminoguanidine (AG)	Inhibiteur partiellement sélectif NOS inductible
Bleu de Méthylène	Inhibiteur de la guanylatecyclase
1H-oxadiazole quinoxaline-1-one (ODQ)	Inhibiteur de la guanylatecyclase

II.3.1.2. Les inhibiteurs des NO synthases :

Chez la souris, dans différents modèles de choc anaphylactique IgE dépendant, le L-NAME a un effet globalement favorable(Amir and English 1991; Osada, Ichiki et al. 1994; Cauwels, Janssen et al. 2006; Takano, Liu et al. 2007). Il améliore la survie et corrige partiellement l'hypotension artérielle. Les données les plus récentes de la littérature suggèrent l'implication particulière de la NOSe par une voie de signalisation du NO partiellement indépendante de la guanylate-cyclase chez la souris non anesthésiée dans un modèle de choc induit par le PAF (Cauwels, Janssen et al. 2006).. Dans une autre étude, cette fois chez la souris anesthésiée(Takano, Liu et al. 2007), seul le L-NAME avant le choc était efficace pour atténuer l'hypotension, le bleu de méthylène et l'ODQ n'avaient pas d'effet en prémédication.

Chez le rat, l'action de la L-NAME est délétère (Zhang, Shibamoto et al. 2009) ou au mieux la correction de l'hypotension artérielle n'est que transitoire et insuffisante pour améliorer la survie(Bellou, Lambert et al. 2003). La NOSn semble être impliquée : la prémédication par le 7-NI (inhibiteur partiellement sélectif de la NOSn) permet d'atténuer l'hypotension artérielle alors que l'aminoguanidine (AG, inhibiteur partiellement sélectif de la NOSi) est sans effet (Zhang, Shibamoto et al. 2009).

Chez le lapin, la prémédication par L-NAME avant l'induction du choc anaphylactique augmente la mortalité et favorise le bronchospame(Mitsuhata, Saitoh et al. 1995).

II.3.1.3. Les inhibiteurs de la guanylate cyclase :

Le bleu de méthylène est utilisé dans de nombreux états de chocs vasoplégiques, en cas d'hypotension réfractaire aux catécholamines. Ces syndromes vasoplégiques semblent être la conséquence d'une dysfonction endothéliale secondaire aux effets directs et indirects de nombreux médiateurs de l'inflammation.

Les résultats de son utilisation dans des essais randomisés chez l'homme sont encourageants, en particulier dans le cadre des syndromes vasoplégiques survenant au cours de la circulation extra-corporelle en chirurgie cardiaque et du choc septique(Stawicki, Sims et al. 2008). Dans le cas du choc anaphylactique il n'existe que de petites séries et des cas

rapportés. 11 patients ont été traités avec succès par le bleu de méthylène dans le cadre d'une hypotension sévère secondaire à une réaction d'anaphylaxie. Il était administré en bolus et/ou en continu, la dose étant de l'ordre de 1,5 à 2 mg/kg(Evora and Simon 2007).

Les données quant à son utilisation en prémédication chez la souris sont négatives ou parcellaires(Cauwels, Janssen et al. 2006; Takano, Liu et al. 2007).

Chez le rat il n'existe pas de données.

Les résultats chez l'homme sont intéressants, ils soulignent l'intérêt de l'utilisation du bleu de méthylène comme traitement adjuvant, ce qui correspond à la pratique clinique et non pas en prémédication comme dans la quasi-totalité des études animales. Une étude chez le lapin est concordante, la prémédication par le bleu de méthylène est inefficace au moment de l'induction du choc anaphylactique par l'administration de l'agent pharmacologique C 48/80, mais l'administration du bleu de méthylène au moment de l'hypotension maximale permet de faire régresser le choc (Buzato, Viaro et al. 2005).

II.3.2. NO et circulation cérébrale :

Chez l'animal sain le NO produit par la NOSe ainsi que le NO exogène induisent une vasodilatation cérébrale. L'administration de L-NAME chez le lapin sous anesthésie générale entraîne une réduction dose dépendante du débit sanguin cérébral, confirmant l'importance du rôle du NO et en particulier de la NOSe dans la régulation du débit sanguin cérébral.

Dans l'ischémie cérébrale le NO produit par la NOSe dans le vaisseau est nécessaire pour le maintien du débit sanguin cérébral et la diminution du volume de l'infarctus ; les inhibiteurs non sélectifs des NOS sont délétères en empêchant la vasodilatation réactionnelle à l'ischémie médiée par la NOSe. Les NOS neuronale et inductible sont neurotoxiques, notamment par l'intermédiaire du glutamate (Li and Forstermann 2000).

Dans un modèle porcin d'ischémie-reperfusion cérébrale (arrêt cardio-circulatoire récupéré), il a été démontré que le BM, par ses effets antioxydants et par la diminution des métabolites du NO, avait des effets neuroprotecteurs en limitant les lésions induites par la rupture de la barrière hémato-encéphalique (œdème cérébral, lésions neuronales)(Miclescu, Sharma et al. 2010).

II.3.3. Rationnel de l'étude :

Les catécholamines activent l'adényl-cyclase responsable d'une augmentation de la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dans la cellule musculaire lisse vasculaire, puis une augmentation du calcium intracellulaire aboutissant à une vasoconstriction (Evora and Simon 2007).

En cas de défaillance hémodynamique sévère, la réponse à l'adrénaline peut être profondément atténuée et conduire rapidement au décès. Face à l'existence en clinique de chocs anaphylactiques réfractaires aux catécholamines (Brown 2005), d'autres voies de signalisation régulant le tonus vasculaire ont été étudié. La vasopressine est un vasoconstricteur faisant elle aussi intervenir l'AMPc. Des cas cliniques ont rapporté son intérêt dans le choc anaphylactique. Son effet est confirmé au niveau expérimental chez le rat, mais l'effet de la vasopressine seule est inférieur à celui de l'adrénaline ou équivalent en association (Dewachter, Jouan-Hureaux et al. 2006; Dewachter, Raeth-Fries et al. 2007).

La voie du NO intervient dans l'hyporéactivité vasculaire au cours du choc anaphylactique, de manière indépendante de l'AMPc, en faisant intervenir la guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Il existe des interactions entre les voies de signalisation des catécholamines et celles du NO, notamment un rétrocontrôle existant entre les catécholamines (via l'AMPc) et la voie du NO. L'AMPc inhibe la NO synthase inductible et la production de NO, par ailleurs celui-ci diminue la libération et l'activité biologique des catécholamines. L'inhibition non spécifique des NO synthases (NOS) ou de la NOS neuronale (NOSn) augmente la libération des catécholamines au niveau surrénal chez le chien (Evora and Simon 2007).

Le bleu de méthylène est un inhibiteur de la guanylate cyclase soluble, chez l'homme il existe des cas cliniques rapportant l'intérêt du bleu de méthylène dans les états de chocs réfractaires(Stawicki, Sims et al. 2008), en particulier anaphylactique(Evora and Simon 2007).

Le but de notre étude était d'examiner le rôle bénéfique ou néfaste de MB seul ou en association avec l'EPI, sur la survie précoce, les paramètres hémodynamiques, la disponibilité en 'oxygène tissulaire, et les perturbations métaboliques, avec un accent particulier sur les conséquences cérébrale, dans notre modèle de choc anaphylactique.

II.3.4. Publication

METHYLENE BLUE AND EPINEPHRINE, A SYNERGETIC ASSOCIATION FOR ANAPHYLACTIC SHOCK TREATMENT

Feng Zheng MD[1*], Grégoire Barthel MD[1,2*], Olivier Collange MD, PhD[3], Chantal Montémont [1], Simon N. Thornton PhD[4], Dan Longrois MD, PhD[5],Bruno Levy MD, PhD[1], Gérard Audibert MD, PhD[1,2], Jean-Marc Malinovsky MD, PhD[1,6], Paul-Michel Mertes MD, PhD[1,3] .

1 .Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM U 961, Faculté de Médecine, Nancy Université, Nancy, France

2. Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Central, CHU de Nancy, Nancy, France

3. Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

4. Laboratoire U961, Faculté de Médecine, Nancy Université, Nancy, France

5. Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Unité INSERM U698, Paris, France

6. Service d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, CHU de Reims, Reims, France

Corresponding Author: PM Mertes, Pôle Anesthésie, Réanimations Chirurgicales, SAMU, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, 1, place de l'hôpital, 67091 Strasbourg Cedex， France;

Phone : 33-383.85.15.31

Fax : 33-383.85.85.59

E-mail : pm.mertes@chu-nancy.fr

* Feng Zheng and Grégoire Barthel contributed equally to this study.

Financial support : This work was supported by the Groupe Choc, Contrat AVENIR INSERM, Faculté de Médecine, Nancy Université, Nancy, France

Keywords : Methylene blue, Epinephrine, Nitric oxide, Shock, Anaphylaxis, Microdialysis, Cerebrovascular circulation, Ischemia

The authors have not disclosed any potential conflicts of interest

Crit Care Med. 2013, 41 (1): 195-204

ABSTRACT

BACKGROUND: Severe hypotension due to anaphylactic shock (AS) may be refractory to epinephrine (EPI) and impair cerebral oxygenation and metabolism contributing to AS morbidity and mortality. Refractoriness to EPI could be corrected by nitric oxide (NO) pathways inhibitors such as methylene blue (MB).

OBJECTVIVES: To compare the systemic and regional (brain and skeletal muscle) effects of EPI and MB, given alone or in combination in a rat model of AS.

DESIGN: Prospective laboratory study.

SETTING: University laboratory.

SUBJECTS: Male Brown-Norway rats (n=60)

INTERVENTIONS: After sensitization and induction of AS by ovalbumin, animals received: either vehicle (OVA group) or a 3 mg/kg MB bolus (MB group) or EPI (EPI group) or both (MB-EPI group). Sensitized control rats received only vehicle and no ovalbumin (CON group).

MERUREMENT AND MAIN RESULTS: Mean arterial pressure (MAP), cardiac output (CO), cerebral blood flow (CBF), skeletal muscular oxygen partial pressure ($mPtiO_2$), cerebral oxygen partial pressure ($cPtiO_2$), skeletal muscular (mLPR) and cerebral (cLPR) interstitial lactate/pyruvate ratio were measured. Cleaved caspase 3 and HIF-1α expression were analysed in cerebral cortex by Western blot. Without treatment, rats died rapidly within 15 minutes from a decrease in CO and MAP, whereas treated rats survived until the end of the experiment. MB alone extended survival time, but without significant improvement of hemodynamic variables and tissue perfusion and did not prevent neuronal injury. EPI restored partially systemic hemodynamic variables and cerebral perfusion preventing glutamate-induced excitotoxicity. Compared to EPI alone, the MB-EPI association avoided neuronal excitotoxicity and had an additive effect both on hemodynamic variables and for prevention of brain ischemia. Neither treatment could significantly restore CO or prevent muscular compartment ischemia and microvascular leakage.

CONCLUSIONS: AS is associated with severe impairment of cerebral blood flow despite correction of arterial hypotension. EPI must still be considered as the first-line vasoconstrictive agent to treat AS. The EPI-MB association was the most effective treatment to prevent cerebral ischemia and could be used in AS refractory to EPI.

Introduction

Anaphylactic shock (AS) is a relatively common problem in the perioperative period with a prevalence of 1-9/10 000 general anesthetic procedures worldwide (1). AS is an acute, potentially fatal reaction within the spectrum of generalized immediate-type hypersensitivity (i.e., anaphylaxis). During anesthesia, this shock is lethal in 3-10% of patients (2, 3) or can lead to severe morbidity (cerebral anoxia). Epinephrine (EPI), recommended by guidelines, may fail to restore rapidly adequate organ perfusion or can be completely ineffective; in this case the shock is considered as refractory to catecholamines for reasons that are not understood (4,5).

AS is commonly classified as a distributive shock characterized by hypovolemia resulting from increased capillary permeability and arterial hypotension due to excessive vasodilatation. However, recent reports indicate that the pathophysiology of anaphylaxis is more complex than initially thought.

Impaired myocardial contractility, an increase in venous tone in the splanchnic and portal vascular beds or in the pulmonary veins, and a severe decrease in blood perfusion in skeletal muscles have been demonstrated (6-10). On the contrary, the consequences on cerebral vasculature and brain perfusion remain to be determined, whereas these changes may be of critical importance in delineating optimal therapeutic goals and strategies (11).

The above mentioned effects of AS on organ function are related to the explosive release of mediators such as histamine, PAF, leukotrienes, TNF α (12,13) leading to the activation of multiple pathways that include but are not limited to the nitric oxide (NO) pathway (14). Despite the documented myocardial depressive effect of NO (15), and the potential beneficial effect related to its inhibition, the effect of pharmacological inhibition of the NO pathway on early survival in AS remains controversial, depending on experimental models, animal species and NO pathway inhibitors used (16-18). It is possible that inhibition of the NO pathway could have beneficial effects on one organ (e.g. the heart) but deleterious on other organs (e.g. the brain).

Furthermore, the interactions between EPI and the different drugs known to pharmacologically inhibit the NO pathway have not been thoroughly investigated. Therefore,

the purpose of our study was to investigate the beneficial or detrimental role of methylene blue (MB, a substance known to inhibit one of the final effectors of NO, i.e. guanylyl cyclase) alone or in association with EPI, on early survival, hemodynamic, tissue oxygen availability and metabolic disturbances, with special emphasis on brain consequences, in an anesthetized rat model of Ig-E mediated AS.

Since long-term consequences of treatments cannot be investigated because of the surgical procedure required in our experiments, brain cleaved caspase 3 and HIF-1α expressions were analyzed as surrogate markers of AS-induced delayed injury in the cerebral cortex.

Materials and methods

Animals and sensitization protocol

After approval by our institutional Animal Care Committee, all animal procedures and care were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC), The animals had free access to water and food.
Ten-week-old Brown Norway rats weighting 250-300g (Janvier, Le Genest-St-Isle, France) were used for these experiments. They were kept under standard conditions (temperature 21 ± 1°C; light from 6AM to 6PM) and given a standardized diet (A04; UAP, Villemoisson-sur-Orge, France) and water (Aqua-clear; Culligan, Northbrook, IL) ad libitum. On days 0, 4 and 14, rats were sensitized by subcutaneous administration of 1 mg grade VI chicken egg albumin (OVA, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and 4 mg aluminum hydroxide in adjuvant (OHAl, Sigma, St Louis, USA) diluted in 1ml 0.9% saline solution, as described previously (7).

Surgical procedure, measurement of hemodynamic variables, tissue oxygen partial pressure and interstitial microdialysis

The surgical procedure was performed on day 21 following the initial sensitization. Anesthesia was induced with 3% isoflurane and maintained with 1% isoflurane. The trachea was cannulated and the lungs were mechanically ventilated with 100% oxygen using Harvard rodent respirator (model 683, Harvard Apparatus, Cambridge, MA). Tidal volume was 2.5ml and respiratory rate was adjusted to maintain PaCO2 between 38 and 42 mmHg. Rectal

temperature was maintained by an intermittent heating light at 38±0.5°C throughout the experiment. A fluid-filled polyethylene catheter (ID, 0.58mm; OD, 0.96mm; Biotrol Diagnostic, Chennevières Les Louvres, France) was inserted in the left femoral artery for pressure monitoring. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were recorded continuously using a strain gauge pressure transducer (DA-100; Biopac Systems, Northborough, MA). Another fluid-filled catheter was inserted in the left femoral vein for administration of drugs and a basal physiological need perfusion of 0.9% saline solution at 10 $ml.kg^{-1}.h^{-1}$. Skeletal muscle and cerebral metabolisms were studied in two independent experimental series.

Specific skeletal muscle procedure:

A thermistor catheter connected to a thermodilution cardiac output computer (Cardiomax III, Colombus Instrument, U.S.A) was inserted in the left carotid artery and moved into the left ventricle for cardiac output (CO) monitoring.

A flexible Clark-type polarographic oxygen electrode (diameter, 500µm; length, 200mm) computer-supported LICOX system (GMS, Mielkendorf, Germany) was introduced in the right quadriceps muscle for tissue oxygen partial pressure measurement ($mPtiO_2$).

In the left quadriceps muscle, a liner flexible microdialysis probe (polyarylethersulfone membrane; membrane length, 10mm; OD, 0.5mm; molecular weight cut-off, 20kd, CMA/Microdialysis AB, Sweden) was inserted as described previously (7). The probe was connected to a 2.5 ml CMA/106 microsyringe mounted on a microinjection pump (CMA 107 Microdialysis Pump, Stockholm, Sweden) and infused at ambient temperature with a lactate free Ringer's solution (Na^+ 147mmol/L, K^+ 4mmol/L, Ca^{2+} 2.3mmol/L, Cl^- 156mmol/L) at a flow rate of 2 $\mu l.min^{-1}$. A period of 30 min was allowed for equilibration before beginning sample collection. Microdialysates were collected in microvials (CMA, Sweden) every 10 mins until the end of the experiment, starting 10 mins before shock induction. Samples were kept on ice initially and then stored at – 20°C. The interstitial lactate, glucose, pyruvate and glutamate were measured with the CMA 600 microdialysis analyser.

Specific cerebral procedure:

Cerebral $PtiO_2$ ($cPtiO_2$) was monitored by a flexible Clark-type polarographic oxygen electrode (OD 0,5 mm, membrane length 200 mm, 4-mm sensitive area, Licox CC1.R, Integra NeuroSciences, France) connected to LICOX CMP instrument (Integra NeuroSciences, France) and inserted into the hippocampus (4,6 mm anterior and 2 mm lateral to the lambda to a depth of 3mm).

Cerebral blood flow (CBF) was monitored using a laser-Doppler needle probe (PERIFLUX systems, probe 411, diameter 450 µm), connected to a PeriFlux PF 5010 laser Doppler monitor (Perimed AB, Stockholm, Sweden), inserted into the right cerebral cortex 2 mm anterior to the oxygen electrode.

A central nervous system-designed microdialysis probe (CMA/12, polyarylethersulfone membrane, length 3 mm, OD 0.5mm, cut-off 20kd, CMA/Microdialysis AB, Sweden) was implanted through a hole placed 7.3mm anterior and 4mm lateral to the lambda in the striatum to a depth of 6mm and probes were infused with CMA isotonic sterile perfusion fluid (NaCl 147; KCl 2.7; CaCl2 1.2; MgCl2 0.85mmol/l) at a flow rate of 2 µl/min.

Induction of shock and treatment with MB and/or EPI

After a 30 mins stabilization period, AS was induced by intravenous injection of 1 mg OVA (T0). Animals were randomly assigned to 5 different groups, vehicle in control group non shocked (C), no-treatment in ovalbumin group (OVA), methylene blue only (MB), epinephrine only (EPI), methylene blue and epinephrine (MB-EPI). The investigator was not blinded to the drugs used. A single bolus of methylene blue (Sigma, St Louis, USA) of 3 mg/kg was injected 3 mins after shock induction (T3). The first bolus of EPI of 2.5 µg was injected at T3 and a second bolus at T5, continuous infusion of EPI 10 $\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$ was initiated immediately after the first bolus. In the group receiving the combined treatment, MB bolus was injected immediately after the first EPI bolus. Mean arterial pressure, HR, CO, CBF, $mPtiO_2$ and $cPtiO_2$ were recorded at the following time points: T0 (prior to shock induction), T1, T2.5, T5, T7.5, T10, T12.5, T15, T17.5, T20 then every 5 mins until the end of experiment. Arterial blood samples were taken from each animal before the shock induction and at the end of the experiment for measurement of arterial blood gas and plasma sodium, chloride, lactate, nitrite, nitrate and hemoglobin. Samples for plasma nitrite and nitrate analysis were stored at - 80°C. They were then deproteinized before analysis using

Vivaspin 500^{TM} centrifugal concentrators (Sigma-Aldrich, St Louis, USA). Plasma concentrations of nitrite and nitrate were measured according to Griess reaction by ELISA (Parameter^{TM} colorimetric competitive ELISA kit, R&D Systems, Abingdon, England) according to the manufacturer's instructions. The animals were killed by an overdose of thiopentone sodium after the last blood sample collection.

Western Blot Analysis

Cerebral cortex tissues were homogenized with a Polytron homogenizer (Tissue-Lyser II, Qiagen, Courtaboeuf, France). Protein content was measured by the Bradford method (Pierce, ThermoScientific, Brebières, France). Protein extracts from cerebral cortex tissues (20µg) were separated by a 4 to 12% Criterion XT Bis-Tris Gel (BioRad, Marnes-la-Coquette, France) and subjected to Western blotting for rabbit anti-HIF 1α (1:2000; Abcam, Paris, France), rabbit anti-cleaved caspase 3 (1:1000; Cell Signaling, Ozyme, Saint-Quentin en Yvelines, France) and β-actin was used as a protein loading control. Bound antibody density analyses were performed by LAS-4000 imager (FSVT, Courbevoie, France) and Multi-Gauge software (LifeScience, Fujifilm, France). After densitometry analyses, optical density values were expressed as arbitrary units (AU).

Statistical Analysis

Results are expressed as mean ± SEM. Intragroup and among-group comparisons were performed using one-way and two-way analysis of variance for repeated measures. Differences between groups at a time period were analysed using the unpaired t test for non-repeated measures with software Statview 5.0 (Deltasoft, Meylan, France). When a significant interaction was observed with two-way analysis of variance, paired comparisons were made with the Fisher *post hoc* test.

Results

Sixty ovalbumin-sensitized Brown Norway rats (274 ± 4 g) were studied and randomly allocated to the CON group (no-shock, n=12), OVA group (no-treatment, n=12), MB group (n=12), EPI group (n=12) and MB-EPI group (n=12). As animals from OVA group

died within 15 minutes, data from microdialysis, Western blot and plasma biochemistry were not obtained from this group.

Systemic hemodynamic variables:

Time-course profiles for MAP (Fig. 1A) and CO (Fig. 1B) were different among the groups. Hemodynamic variables remained relatively stable throughout the entire study period in control animals, whereas ovalbumin injection resulted in a similar rapid and profound decrease of MAP and CO in the other groups. Without treatment, rats died within 15 mins, with a dramatic decrease in CO and MAP, whereas treated rats survived until the end of the experiment. Treatment resulted in stabilization of MAP at a low value in the MB group. MAP increased progressively, reaching 70 % of the basal value at the end of the experiment in the EPI group, and was completely restored as of T30 min in the MB-EPI group. The three treatments enhanced CO as compared to the OVA group; after the initial decrease, CO remained stable at low values in the MB group. Epinephrine alone or in association with MB restored poorly CO at 26%, 31% of basal value respectively, but without significant difference among these 3 groups.

Effects of the different treatments in the cerebral compartment:

Cerebral hemodynamic and metabolic variables remained stable during the entire study period in the control rats. In the absence of treatment, a rapid and profound decrease in CBF and $cPtiO_2$ was observed following shock induction (Fig. 2A and 2B). A similar decrease in CBF was observed in the treated groups up to 12.5 mins following shock induction. Subsequently CBF stabilization occurred at low values in the MB group from 106 ± 2 to 22 ± 3 PU (perfusion units), whereas EPI alone or in association with MB restored partially CBF (55 % and 77 % from basal values respectively, Fig. 2A).

Following shock induction a significant decrease in $cPtiO_2$ was initially observed in each treatment group. Subsequently, in the MB group, $cPtiO_2$ decreased slightly with time, reaching values below the cerebral ischemic threshold (cPtiO2<20 mmHg) as of T 25 mins. These low $cPtiO_2$ values in the MB group, reflecting ischemia, were in agreement with the decrease of interstitial glucose concentrations (Table 1), the progressive increase in L/P ratio (Fig. 2C) and the release of glutamate (Fig. 2D).

In contrast, EPI alone or in association with MB, restored progressively O_2 availability (79% and 92% respectively of basal values, Fig. 2B). This was confirmed by cerebral microdialysis results confirming a relative stability of glucose interstitial concentrations and L/P ratio (Fig. 2C) and the absence of increased glutamate release reflected by a moderate increase in interstitial glucose concentrations (Table 1) and glutamate decrease (Fig. 2D).

Effects of the different treatments in the muscular compartment:

The time course profiles of $mPtiO_2$ (Fig. 3A) were similar in all treated groups. A rapid and sustained decrease in $mPtiO_2$ was observed following shock induction. The basal values were approximately 40 mmHg, decreased rapidly after shock induction and stabilized finally at low values without restoration. The effects of EPI alone, MB-EPI and MB (6.8±1.6 mmHg, 6.8±1.6 mmHg and 4.2±2.0 mmHg respectively) on oxygen availability were not statistically different.

Interstitial muscular lactate concentrations increased progressively and interstitial pyruvate concentrations decreased progressively with time without differences among treatment groups (Table 2). A progressive increase in interstitial muscular L/P ratios was observed in all treatment groups, values were significantly different in the group MB alone and EPI alone as compared to the group CON (Fig. 3B). However, maximal values obtained at the end of the experiment tended to be lower in the MB-EPI-treated animals, although this difference failed to reach statistical significance among treatment groups.

Time course of systemic biochemistry variables

The time course of the main systemic biochemistry variables is summarized in Table 3. No differences were observed among groups before ovalbumin injection (T0). Data from the OVA group are not shown, because of animals' death after 15 mins and so biochemistry results were not measured. Sixty minutes after onset of shock, no significant differences were observed among treated groups, except for $PaCO_2$, nitrate and nitrite. In each group, AS induced a severe lactic acidosis and hemoconcentration (haemoglobin: from 12.1 ± 0.3 to 14.6 ±0.4 g/dL).

Expression of activated caspase 3 and HIF-1α in the cerebral cortex

Sixty minutes after the onset of shock, there was a significant increase in the expression of activated caspase 3 in the cerebral cortex in the MB and EPI groups compared to the MB-EPI group. It was moderately under-expressed in the MB-EPI group compared with the CON group but not significantly. With regards to hypoxia-inducible factor (HIF)-1α, changes were not significantly different among groups. It was under expressed in the MB and EPI groups and similar to the control group in the MB-EPI group (Fig.4).

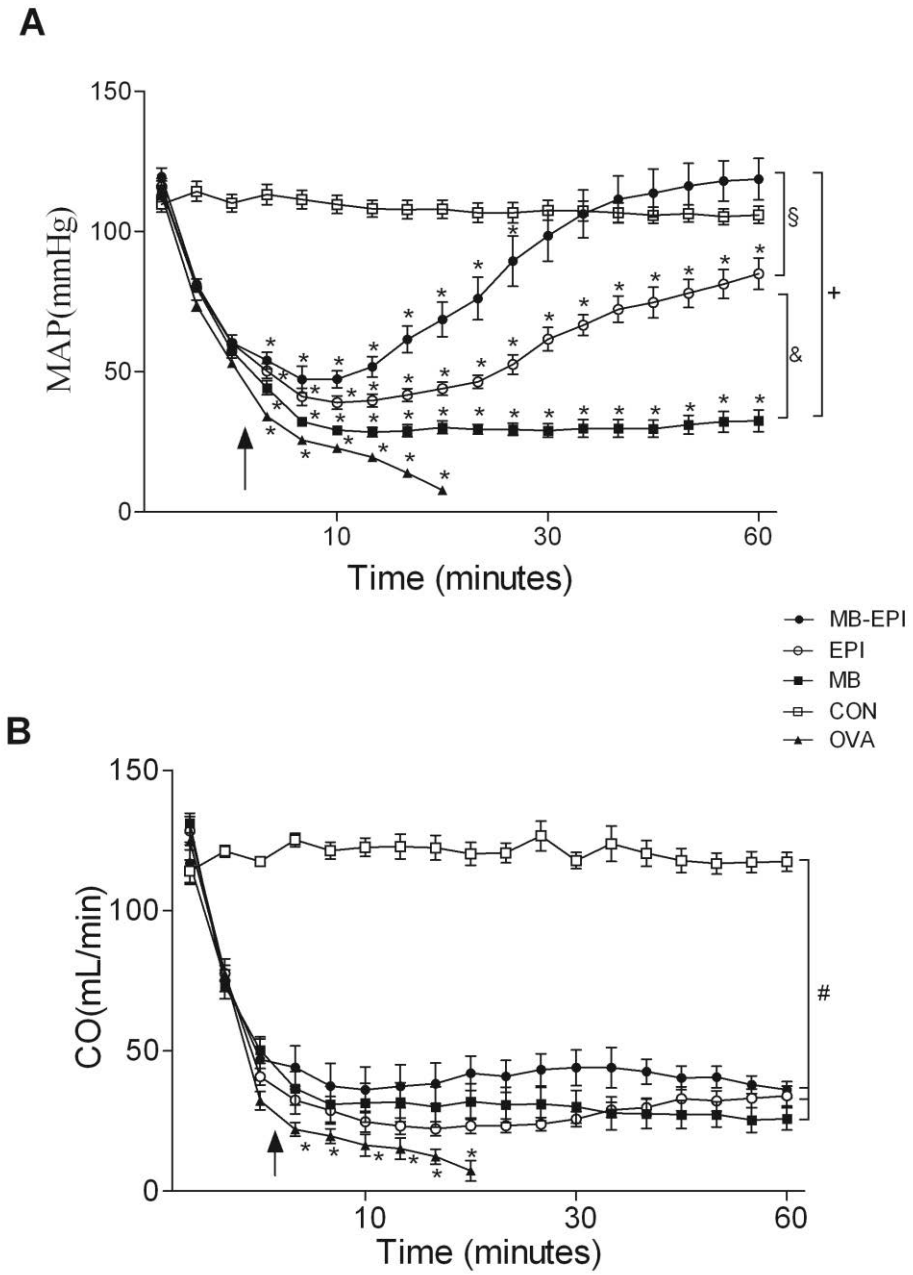


Fig.1 Time course of systemic mean arterial pressure (MAP) (A, n=12 rats/group) and cardiac output (CO) (B, n=6 rats/group) values in Ovalbumin (OVA), Control (CON), Methylene Blue (MB), Epinephrine (EPI), and Epinephrine associated with Methylene Blue (MB-EPI) groups. Time 0

corresponds to the injection of ovalbumin. Triangle, OVA group; white square, CON group; black square, MB group; white circle, EPI group; black circle, MB-EPI group. Values are presented as mean ± SEM. ↑ Corresponds to the beginning of treatment. * $p \leq .05$ versus the control group $^{+}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI group versus MB group, $^{\&}p \leq .05$ between-group differences EPI group versus MB group, $^{\S}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI group versus EPI group, $^{\#}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI or EPI or MB groups versus CON group.

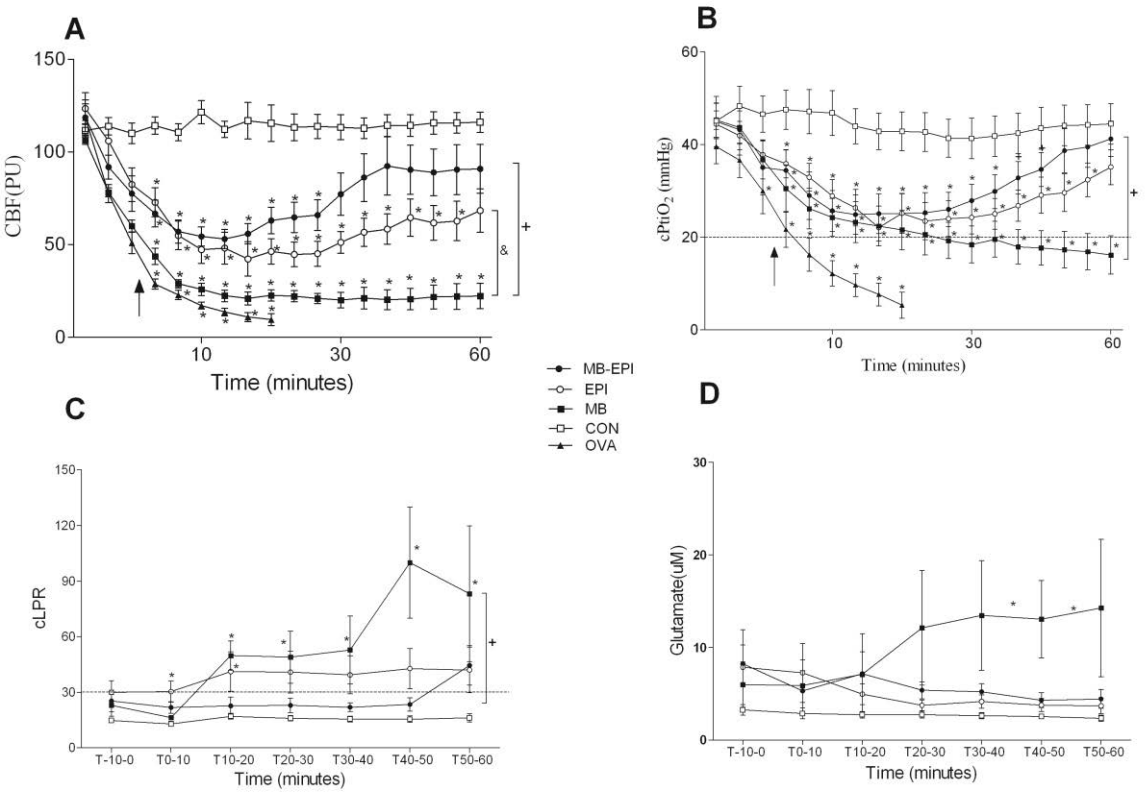


Fig.2 Time course of cerebral cortical blood flow (CBF) (A), tissue oxygen partial pressure in hippocampus ($PtiO_2$) (B), lactate/pyruvate ratio (cLPR) in striatum(C) and interstitial glutamate(D) in striatum values in Ovalbumin (OVA), Control (CON), Methylene blue (MB), Epinephrine (EPI) and Epinephrine associated with Methylene blue (MB-EPI) groups (n=6 rats/group). Because of the microdialysis flow rate, samples were collected every 10 mins, starting 10 mins before shock induction (T0). OVA rats died within 15 mins, so their data was not measured. Triangle, OVA group; white square, CON group; black square, MB group; white circle, EPI group; black circle, MB-EPI group. Values are presented as mean ± SEM. ↑ corresponds to injection of treatment, the dotted line corresponds the ischemic threshold; *$p \leq .05$ versus the control group , $^{+}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI group versus MB group, $^{\&}p \leq .05$ between-group differences EPI group versus MB group.

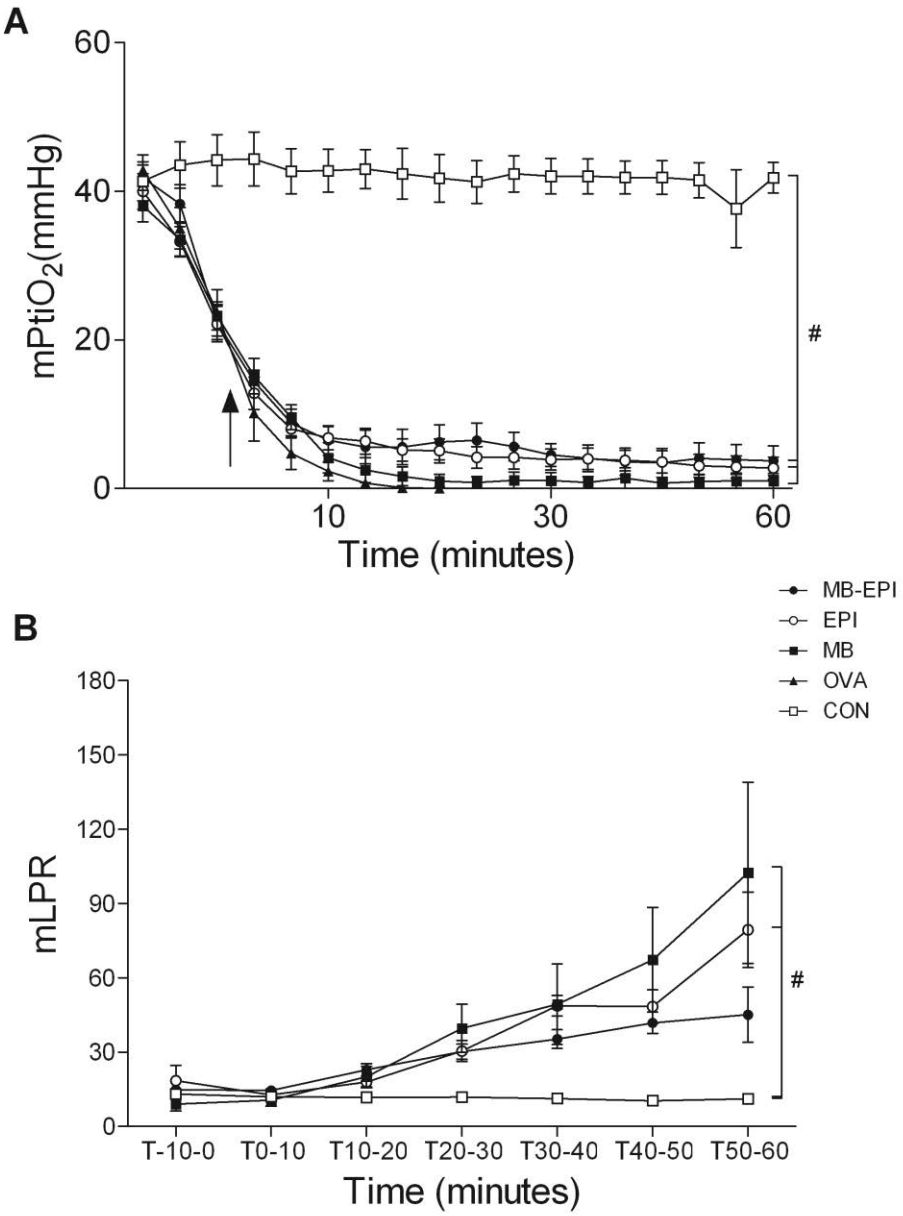


Fig.3 Time course of tissue oxygen partial pressure ($mPtiO_2$) (A) and lactate/pyruvate ratio (mLPR) (B) values in skeletal muscle in Ovalbumin (OVA), Control (CON), Methylene blue (MB), Epinephrine (EPI) and Epinephrine associated with Methylene blue (MB-EPI) groups (n=6 rats/group). Because of the microdialysis flow rate, samples were collected every 10 mins, since 10 mins before shock induction (T0). OVA rats died within 15 mins, so the data were not measured. Triangle, OVA group; white square, CON group; black square, MB group; white circle, EPI group; black circle, MB-EPI group. Values are presented as mean ± SEM. ↑ Corresponds to injection of treatment bolus. $^{\#}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI or EPI or MB groups versus CON group.

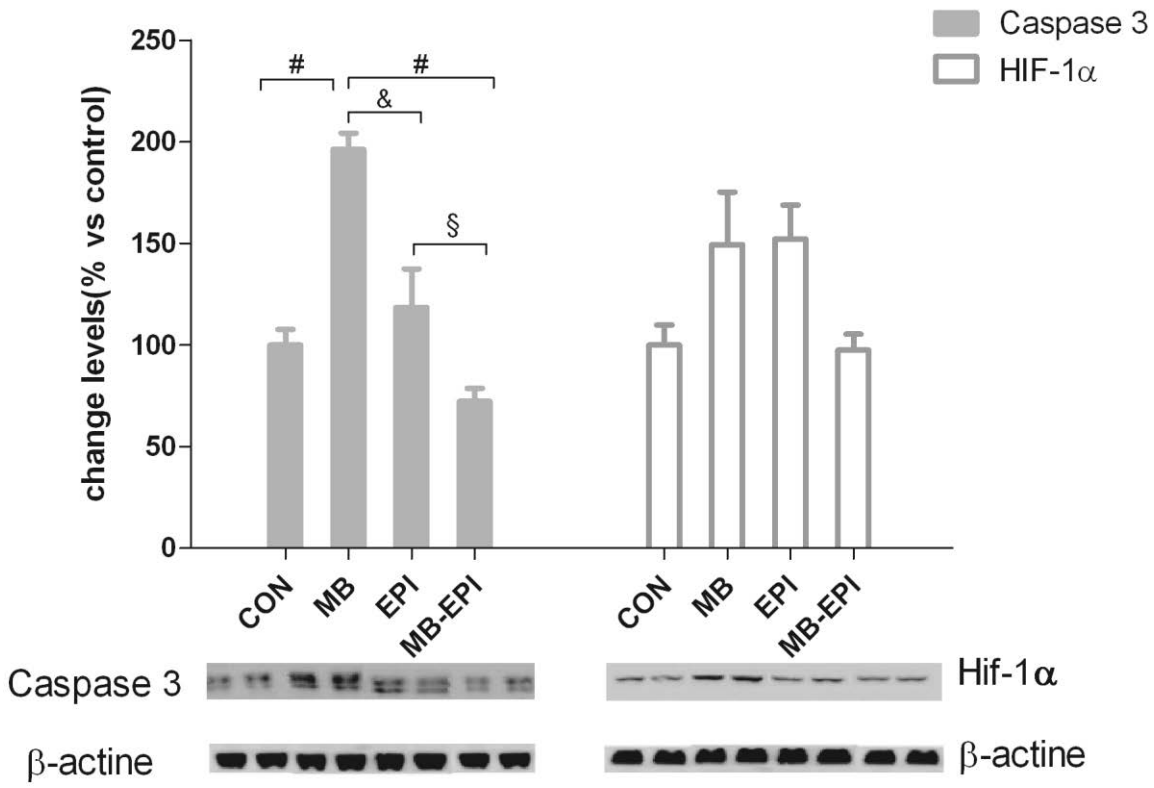


Fig. 4 Expression of caspase 3 activated (the grey column) and HIF-1α (the white column) in the cerebral cortex in Control (CON), Methylene blue (MB), Epinephrine (EPI) and Epinephrine associated with Methylene blue (MB-EPI) groups (n=6 rats/group). Because all rats in the OVA group died within 15 mins, tissueswere not used. . $^{+}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI group versus MB group, $^{\&}p \leq .05$ between-group differences EPI group versus MB group, $^{\S}p \leq .05$ between-group differences MB-EPI group versus EPI group, $^{\#}p \leq .05$ between-group differences MB group versus CON group.

Table1: Time course of interstitial lactate, pyruvate and glucose concentrations in the brain (n=6 rats/group).

		CON	MB	EPI	MB-EPI
Lactate(mM)	T-10 to T0	0.32±0.07	0.20±0.04	0.34±0.14	0.27±0.04
	T0 to T10	0.23±0.05	0.23±0.04	0.32±0.08	0.23±0.01
	T10 to T20	0.30±0.05	0.59±0.11[b]	0.40±0.02	0.43±0.06
	T20 to T30	0.25±0.02	0.55±0.12[b]	0.40±0.04	0.47±0.10
	T30 to T40	0.24±0.02	0.50±0.13[b]	0.36±0.04	0.33±0.08
	T40 to T50	0.24±0.03	0.50±0.14	0.31±0.01	0.36±0.08
	T50 to T60	0.24±0.03	0.39±0.12	0.27±0.03	0.31±0.06
Pyruvate(mM)	T-10 to T0	0.020±0.003	0.012±0.004	0.011±0.003	0.015±0.004
	T0 to T10	0.017±0.002	0.015±0.003	0.011±0.002	0.012±0.002
	T10 to T20	0.017±0.001	0.014±0.004	0.012±0.003	0.023±0.006
	T20 to T30	0.016±0.002	0.014±0.003	0.011±0.003	0.022±0.005
	T30 to T40	0.016±0.002	0.014±0.003	0.012±0.003	0.016±0.004
	T40 to T50	0.017±0.001	0.007±0.002[b]	0.010±0.003	0.017±0.005[a]
	T50 to T60	0.016±0.002	0.008±0.003	0.010±0.003	0.010±0.003
Glucose(mM)	T-10 to T0	0.22±0.03	0.21±0.06	0.23±0.07	0.26±0.05
	T0 to T10	0.25±0.09	0.17±0.05	0.26±0.05	0.25±0.03
	T10 to T20	0.35±0.09	0.071±0.03[b]	0.23±0.01	0.28±0.04b[a]
	T20 to T30	0.23±0.08	0.11±0.05	0.23±0.04	0.30±0.05[a]
	T30 toT40	0.23±0.05	0.11±0.05	0.30±0.03[a]	0.34±0.05[a]
	T40 to T50	0.27±0.04	0.13±0.05	0.28±0.04[a]	0.38±0.06[a]
	T50 to T60	0.25±0.03	0.11±0.06	0.31±0.03[a]	0.28±0.07[a]

Time 0 (T0) corresponds to injection of 1mg ovalbumin.[a] *$p \leq .05$ vs the MB group,* [b] *$p \leq .05$ vs the CON group.*

Table2: Time course of interstitial lactate and pyruvate concentrations in the skeletal muscle.

		CON	MB	EPI	MB-EPI
Lactate(mM)	T-10 to T0	0.37±0.04	0.38±0.12	0.69±0.14	1.13±0.17[b,a]
	T0 toT10	0.42±0.03	0.47±0.13	0.63±0.12	0.98±0.16[c,a]
	T10 to T20	0.48±0.05	0.79±0.13	0.92±0.13	1.63±0.22[c,b,a]
	T20 to T30	0.43±0.05	1.20±0.18[c]	1.64±0.22[c]	2.13±0.22[c,a]
	T30 to T40	0.47±0.04	1.72±0.29[c]	2.59±0.41[c]	2.29±0.25[c]
	T40 to T50	0.46±0.04	1.91±0.31[c]	2.35±0.32[c]	2.26±0.25[c]
	T50 to T60	0.48±0.04	2.46±0.53[c]	2.70±0.39[c]	2.35±0.56[c]
Pyruvate(mM)	T-10 to T0	0.028±0.003	0.047±0.011	0.056±0.014	0.078±0.012
	T0 to T10	0.036±0.004	0.052±0.013	0.055±0.011	0.070±0.013[c]
	T10 to T20	0.036±0.010	0.049±0.011	0.056±0.011	0.073±0.010[c]
	T20 to T30	0.037±0.006	0.043±0.012	0.056±0.007	0.075±0.012[c]
	T30 to T40	0.043±0.006	0.057±0.021	0.053±0.007	0.068±0.010
	T40 to T50	0.045±0.005	0.043±0.012	0.051±0.008	0.057±0.009
	T50 to T60	0.044±0.004	0.033±0.005	0.041±0.010	0.055±0.007[a]

Time 0 (T0) corresponds to injection of ovalbumin.[a] *$p \leq .05$ vs MB group,* [b] *$p \leq .05$ vs EPI group,*[c] *$p \leq .05$ vs CON group.*

Table3. Biochemistry variables in Control (CON), Methylene blue (MB), Epinephrine (EPI) and Epinephrine associated with Methylene blue (MB-EPI) groups (n=12 rats/group).

Group	Time (min)	CON	MB	EPI	MB-EPI
pH	T0	7.44±0.02	7.41±0.02	7.42±0.01	7.42±0.01
	T60	7.44±0.02	7.16±0.07^{c,d}	7.17±0.04^{c,d}	7.09±0.04^{c,d}
Pco_2	T0	27.2±1.7	28.5±1.7	29.9±1.1	30.2±1.2
(mmHg)	T60	29.3±1.4^{a}	17.0±2.0^{c,d}	27.0±4.0^{a}	31.8±4.3^{a}
Po_2	T0	254.5±18.3	283.3±19.4	294.0±12.4	269.3±15.3
(mmHg)	T60	272.2±12.0	289.5±39.2	287.4±28.2	228.8±31.1
HCO_3	T0	17.8±0.7	18.3±0.7	19.3±0.5	18.9±0.4
($mmol.L^{-1}$)	T60	19.4±0.6	7.0±1.7^{c,d}	9.1±0.7^{c,d}	9.2±1.0^{c,d}
Lactate	T0	2.7±0.2	2.5±0.2	2.6±0.3	2.7±0.2
($mmol.L^{-1}$)	T60	3.2±0.3	8.3±0.8^{c,d}	7.0±0.5^{c,d}	7.6±0.7^{c,d}
Hb	T0	12.3±0.4	12.1±0.3	12.9±0.2	12.5±0.2
($g.dl^{-1}$)	T60	12.0±0.3	14.6±0.4^{d}	14.9±0.5^{d}	15.2±0.5^{d}
Glucose	T0	13.6±0.4	12.1±1.2	12.5±0.7	14.2±1.1
($mmol.L^{-1}$)	T60	10.1±0.5	11.8±1.5	13.8±1.6	15.7±2.0^{c}
Na($mmol.L^{-1}$)	T0	137.2±1.2	137.8±0.9	136.4±0.5	136.6±0.6
	T60	137.0±0.6	138.9±1.9	137.9±1.0	131.4±1.4
Nitrite($\mu mol.L^{-1}$)	T60	2.4±0.8	4.1±1.4	4.1±0.9	8.7±1.5^{a,b,c}
Nitrate($\mu mol.L^{-1}$)	T60	28.4±1.7	22.4±2.5^{c}	28.0±1.6^{a}	31.7±1.7^{a}

Time 0 corresponds to the injection of ovalbumin. All biochemistry variables were measured in plasma. Values are presented as mean ± SEM. In order to avoid massive blood spoiling before injection of ovalbumin, we measured nitrite and nitrate only at the end of the experiment. $^{a}p \leq .05$ *vs MB group*，$^{b}p \leq .05$ *vs EPI group,*^{c} $p \leq .05$ *vs CON group,* $^{d}p \leq .05$*vs T0.*

Discussion:

According to our knowledge, this is the first report describing the highly deleterious consequences of AS on the brain and their attenuation by three different treatment regimens that are routinely (EPI) or potentially (MB) used in humans that have AS.

Under physiological conditions, the cerebral circulation is intimately involved in adequate blood distribution (19-22). Maintenance of cerebral blood flow during hypotension is essential for homeostasis and prevention of irreversible brain damage. It is assumed, but not demonstrated, that even in severe AS states, cerebral circulation is maintained (11). Meanwhile, a severe decrease in regional flow is expected to occur in skeletal muscle. Our results demonstrate that in untreated AS, the dramatic decrease in CO and CBF precluded any redistribution of blood flow to the brain and resulted in severe brain hypoxia and metabolic disturbances (Fig.1B, 2A).

Concerning the pharmacological interventions that could attenuate the decrease in CBF and its deleterious cerebral consequences, the main findings of this study on the treatment of AS were that: (i) in this model of lethal AS, administration of MB alone extended survival time, but did not prevent neuronal injury, as demonstrated by a major glutamate release; this is probably the result of a poor improvement of hemodynamic parameters and tissue perfusion. Therefore, MB alone cannot be recommended as monotherapy; (ii) EPI, the recommended treatment of AS, partially restored systemic hemodynamic variables and cerebral perfusion thus preventing glutamate-induced excitotoxicity; (iii) the MB-EPI association, just like EPI alone, avoided neuronal excitotoxicity and had an additive effect on hemodynamic variables and for the prevention of brain ischemia and neuronal apoptosis compared to individually administered drugs; (iv) Neither treatment significantly restored CO nor prevented muscular compartment ischemia and microvascular leakage.

A key reason for studying the effect of MB in AS is the suggestion that MB might be a potential therapeutic drug in catecholamine-refractory vasoplegia associated with sepsis and the systemic inflammatory reaction syndrome in a variety of clinical contexts including cardiac surgery (23-25).

In addition, several clinical case reports have been published supporting the clinical interest of MB in AS. In most cases, MB was administered either as a bolus or as a continuous infusion in combination with EPI (14). In our study, we used a single 3mg/kg bolus of MB, similar to the therapeutic doses which have been reported as safe and efficient in other types of refractory hypotension (26-28). Although doses as high as 5 to 7.5 mg/kg are usually well

tolerated (14), the use of doses of 4mg/kg or less has been recommended (29), the 50% lethal dose in sheep being estimated at 40 mg/kg (30).

In the present investigations, a single bolus of MB enhanced significantly survival time but stabilized hemodynamic variables at low values as compared to baseline. This confirms results published by other groups (17). In our experiments, treatment with MB alone did not prevent cerebral ischemia attested by decreased $cPtiO_2$ values and neuronal injury, demonstrated by the major glutamate release observed in microdialysate samples. Although clinically insufficient, these results support clearly the interest in NO pathway modulation and the use of MB for the treatment of severe anaphylactic shock, as reported by other groups (17,31). Indeed, several studies conducted in different species have demonstrated that NO is an important mediator in anaphylaxis. However, the beneficial versus detrimental effects on hemodynamics, organ dysfunction and survival associated with modulation of the NO pathway remain unclear.

Studies conducted in mice models reported beneficial effects of N^G-nitro-L-arginine-methyl ester administration on both hypotension and survival (14,16,32), and demonstrated the role played by endothelial nitric oxide synthase in murine anaphylaxis (13). On the contrary, MB only partially prevented PAF-induced shock (13) or failed to prevent hypotension in ovalbumin-induced shock (18), suggesting that effects of NO, independent from soluble guanylyl cyclase activation might play a role.

However, studies conducted in rabbits reported decreased survival resulting from worsened bronchospasm and more severe cardiac depression (33). Similar results were observed in IgE-mediated anaphylaxis in dogs, where L-NAME, a nonselective inhibitor of NOS isoforms, corrected the vasodilatation and hemoconcentration, but did not improve cardiac function (34). This was also reported by our group in this model of anaphylaxis in Brown Norway rats, showing that constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improved the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but not survival (35). In contrast, 7-nitroindazole, a putative selective nNOS inhibitor, but not L-NAME or aminoguanidine, has been shown to attenuate arterial hypotension during AS in rats (36). Finally, as observed in the present study, improved mean arterial pressure and prolonged survival have been reported with the use of MB, during experimental anaphylaxis in rabbits (17).

Part of the differences observed might be species-specific. It is probable, but this requires demonstration, that the degree of cardiac dysfunction in different models of AS can also play a role. Extrapolating from experimental models of sepsis and from human studies, it is conceivable that in the presence of severe myocardial dysfunction, NO synthase inhibitors may worsen survival by further alteration of right ventricular function through increased right ventricular afterload (37). From a clinical point of view, all these results are not an incentive to the use of MB alone to treat AS mainly because of reduced effectiveness. Furthermore, direct inhibitors of NOS isoforms are not available in clinical practice.

As could be expected, EPI, the recommended treatment of AS, restored partially systemic hemodynamic variables and cerebral perfusion thus preventing cerebral ischemia and glutamate-induced excitotoxicity as demonstrated by our brain microdialysis results. However, EPI failed to normalize cerebral oxygen availability and could not prevent a significant increase in caspase 3 and a trend in increased HIF-1α expression. This increase in HIF1α expression failed to reach statistically significant values, probably because of the early tissue sampling time in this study (38).

Interestingly, in this model of lethal anaphylaxis, the combination of EPI and MB was significantly more effective than EPI alone. Although this association failed to normalize cardiac output values, it restored mean arterial pressure, cerebral blood flow and brain oxygen availability. It also prevented any increase in microdialysis L/P ratio and glutamate concentrations, as well as caspase 3 and HIF-1α expression arguing against the presence of severe ischemic brain injury. Several hypotheses might explain this apparent synergistic effect. Apart from the direct hemodynamic effects of both drugs and the interaction between NO and catecholamines classically described (39-41), other factors directly related to concomitant MB and EPI administration might also be involved.

Indeed, the discordance between the improved survival associated with MB alone and the lack of correction of tissue perfusion and abnormalities can be related to the NO pathway-independent effects of MB. After systemic administration, MB can be rapidly and extensively accumulated in the nervous system (42). It has been used as a neuroprotective agent in drug-induced encephalopathy, dementia and maniac-depressive psychosis (38,43,44). Furthermore, MB exhibits promising cardio- and neuroprotective properties in experimental cardiac arrest and is effective in both attenuating ischemia-reperfusion syndrome and increasing short-term

survival after resuscitation (45,46). Methylene blue exerts neuroprotection by regulation of the expression of soluble guanylyl cyclase and diverse biological processes ranging from inhibition of apoptosis and reversal of the shutdown of translation to restoration of functional cellular trafficking and activation of brain repair/regeneration genes as well as induction of critical neuroprotective proteins (47).

Another important finding of our study concerns the discordance between correction of arterial hypotension and persistence of a very low cardiac output after treatment of AS. The consequences of this discordance are illustrated by the persistence of muscular and brain hypoxia with its deleterious metabolic consequences (increased lactate/pyruvate ratio and glutamate release). This observation suggests that upon partial or complete correction of arterial hypotension, one should anticipate persistence of low cardiac output. Moreover, in cases of AS refractory to conventional treatment (lack of correction of MAP), a very low cardiac output may continue, and place patients at risk for severe brain dysfunction This could be due either to severe hypovolemia (demonstrated in our experiments by hemoconcentrations), a plausible cause in patients without prior cardiac disease, or severe cardiac dysfunction. In such cases, therapeutic measures other than EPI should be considered.

Limitations of the study

In the present study, we did not observe any alterations in the plasma nitrite level after the different treatment regimens. These results are consistent with previous reports. Nitric oxide production can be detected in tissue using an NO-sensitive electrode in anaphylactic rabbits (33), but not in plasma (17). A lack of increase in plasma nitrate concentrations has also been reported in 48-80 induced AS in pigs (23). Similar results have been obtained in men, in whom increased nitric oxide production has been detected in exhaled breath (48), whereas no significant increase in nitric oxide levels were detected in plasma (49). Taken together, these results suggest that nitric oxide production can be detected in tissue but not in plasma.

Another potential limitation is the absence of high level of volume expansion, which was limited to the injection of a bolus of 1 ml of saline followed by a continuous infusion at a dose of 10 mL/kg/h. Further studies are required to investigate. The additional effect of

various volume expansion protocol in our model of lethal anaphylaxis remains to be investigated.

Further studies are required to identify the mechanisms underlying the potential beneficial effects of the MB-EPI association. Although addition of MB in cases of AS refractory to conventional treatment cannot be recommended, such an intervention may be considered in difficult cases.

Conclusion

Our results suggest that association of MB to EPI but not MB alone may have beneficial effects in severe AS through mechanisms that remain to be elucidated. Furthermore, upon treatment of AS, the dissociation between corrected MAP and persistently low CO continues to place the subject at risk for systemic and neurologic hypoperfusion, because brain ischemia, hypoxia and metabolic dysfunction are major characteristics of AS.

References:

1. Mertes PM, Laxenaire MC, Lienhart A, Aberer W, Ring J, Pichler WJ, Demoly P: **Reducing the risk of anaphylaxis during anaesthesia: guidelines for clinical practice**. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2005, **15**(2):91-101.
2. Currie M, Webb RK, Williamson JA, Russell WJ, Mackay P: **The Australian Incident Monitoring Study. Clinical anaphylaxis: an analysis of 2000 incident reports**. *Anaesth Intensive Care* 1993, **21**(5):621-625.
3. Mitsuhata H, Matsumoto S, Hasegawa J: **The epidemiology and clinical features of anaphylactic and anaphylactoid reactions in the perioperative period in Japan**. *Masui* 1992, **41**(10):1664-1669.
4. Brown SG: **Cardiovascular aspects of anaphylaxis: implications for treatment and diagnosis**. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005, **5**(4):359-364.
5. Kemp SF, Lockey RF: **Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms**. *J Allergy Clin Immunol* 2002, **110**(3):341-348.
6. Cui S, Shibamoto T, Zhang W, Takano H, Kurata Y: **Venous resistance increases during rat anaphylactic shock**. *Shock* 2008, **29**(6):733-739.
7. Dewachter P, Jouan-Hureaux V, Franck P, Menu P, de Talance N, Zannad F, Laxenaire MC, Longrois D, Mertes PM: **Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption**. *Anesthesiology* 2005, **103**(1):40-49.
8. Karasawa N, Shibamoto T, Cui S, Takano H, Kurata Y, Tsuchida H: **Hepatic pre-sinusoidal vessels contract in anaphylactic hypotension in rabbits**. *Acta Physiol (Oxf)* 2007, **189**(1):15-22.

9. Liu W, Takano H, Shibamoto T, Cui S, Zhao ZS, Zhang W, Kurata Y: **Involvement of splanchnic vascular bed in anaphylactic hypotension in anesthetized BALB/c mice**. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007, **293**(5):R1947-1953.

10. Miyahara T, Shibamoto T, Wang HG, Koyama S: **Role of circulating blood components and thromboxane in anaphylactic vasoconstriction in isolated canine lungs**. *J Appl Physiol* 1997, **83**(5):1508-1516.

11. Czosnyka M, Brady K, Reinhard M, Smielewski P, Steiner LA: **Monitoring of cerebrovascular autoregulation: facts, myths, and missing links**. *Neurocrit Care* 2009, **10**(3):373-386.

12. Brown SG: **Anaphylaxis: clinical concepts and research priorities**. *Emerg Med Australas* 2006, **18**(2):155-169.

13. Cauwels A, Janssen B, Buys E, Sips P, Brouckaert P: **Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO**. *J Clin Invest* 2006, **116**(8):2244-2251.

14. Evora PR, Simon MR: **Role of nitric oxide production in anaphylaxis and its relevance for the treatment of anaphylactic hypotension with methylene blue**. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007, **99**(4):306-313.

15. Joe EK, Schussheim AE, Longrois D, Maki T, Kelly RA, Smith TW, Balligand JL: **Regulation of cardiac myocyte contractile function by inducible nitric oxide synthase (iNOS): mechanisms of contractile depression by nitric oxide**. *J Mol Cell Cardiol* 1998, **30**(2):303-315.

16. Amir S, English AM: **An inhibitor of nitric oxide production, NG-nitro-L-arginine-methyl ester, improves survival in anaphylactic shock**. *Eur J Pharmacol* 1991, **203**(1):125-127.

17. Buzato MA, Viaro F, Piccinato CE, Evora PR: **The use of methylene blue in the treatment of anaphylactic shock induced by compound 48/80: experimental studies in rabbits**. *Shock* 2005, **23**(6):582-587.

18. Takano H, Liu W, Zhao Z, Cui S, Zhang W, Shibamoto T: **N(G)-nitro-L-arginine methyl ester, but not methylene blue, attenuates anaphylactic hypotension in anesthetized mice**. *J Pharmacol Sci* 2007, **104**(3):212-217.

19. Andresen J, Shafi NI, Bryan RM, Jr.: **Endothelial influences on cerebrovascular tone**. *J Appl Physiol* 2006, **100**(1):318-327.

20. Buerk DG, Ances BM, Greenberg JH, Detre JA: **Temporal dynamics of brain tissue nitric oxide during functional forepaw stimulation in rats**. *Neuroimage* 2003, **18**(1):1-9.

21. Iadecola C: **Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease**. *Nat Rev Neurosci* 2004, **5**(5):347-360.

22. Rosengarten B, Wolff S, Klatt S, Schermuly RT: **Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition or norepinephrine on the neurovascular coupling in an endotoxic rat shock model**. *Crit Care* 2009, **13**(4):R139.

23. Evora PR, Viaro F: **The guanylyl cyclase inhibition by MB as vasoplegic circulatory shock therapeutical target**. *Curr Drug Targets* 2006, **7**(9):1195-1204.

24. Levin RL, Degrange MA, Bruno GF, Del Mazo CD, Taborda DJ, Griotti JJ, Boullon FJ: **Methylene blue reduces mortality and morbidity in vasoplegic patients after cardiac surgery**. *Ann Thorac Surg* 2004, **77**(2):496-499.

25. Mora-Ordonez JM, Sanchez-Llorente F, Galeas-Lopez JL, Hernandez Sierra B, Prieto-Palomino MA, Vera-Almazan A: **[Use of methylene blue in the treatment of vasoplegic syndrome of post-operative heart surgery]**. *Med Intensiva* 2006, **30**(6):293-296.

26. Donati A, Conti G, Loggi S, Munch C, Coltrinari R, Pelaia P, Pietropaoli P, Preiser JC: **Does methylene blue administration to septic shock patients affect vascular permeability and blood volume?** *Crit Care Med* 2002, **30**(10):2271-2277.

27. Maslow AD, Stearns G, Butala P, Schwartz CS, Gough J, Singh AK: **The hemodynamic effects of methylene blue when administered at the onset of cardiopulmonary bypass**. *Anesth Analg* 2006, **103**(1):2-8, table of contents.

28. Sparicio D, Landoni G, Zangrillo A: **Angiotensin-converting enzyme inhibitors predispose to hypotension refractory to norepinephrine but responsive to methylene blue**. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **127**(2):608.

29. Martindale SJ, Stedeford JC: **Neurological sequelae following methylene blue injection for parathyroidectomy**. *Anaesthesia* 2003, **58**(10):1041-1042.

30. Burrows GE: **Methylene blue: effects and disposition in sheep**. *J Vet Pharmacol Ther* 1984, **7**(3):225-231.

31. Menardi AC, Capellini VK, Celotto AC, Albuquerque AA, Viaro F, Vicente WV, Rodrigues AJ, Evora PR: **Methylene blue administration in the compound 48/80-induced anaphylactic shock: hemodynamic study in pigs**. *Acta Cir Bras* 2011, **26**(6):481-489.

32. Osada S, Ichiki H, Oku H, Ishiguro K, Kunitomo M, Semma M: **Participation of nitric oxide in mouse anaphylactic hypotension**. *Eur J Pharmacol* 1994, **252**(3):347-350.

33. Mitsuhata H, Saitoh J, Hasome N, Takeuchi H, Horiguchi Y, Shimizu R: **Nitric oxide synthase inhibition is detrimental to cardiac function and promotes bronchospasm in anaphylaxis in rabbits**. *Shock* 1995, **4**(2):143-148.

34. Mitsuhata H, Takeuchi H, Saitoh J, Hasome N, Horiguchi Y, Shimizu R: **An inhibitor of nitric oxide synthase, N omega-nitro-L-arginine-methyl ester, attenuates hypotension but does not improve cardiac depression in anaphylaxis in dogs**. *Shock* 1995, **3**(6):447-453; discussion 454.

35. Bellou A, Lambert H, Gillois P, Montemont C, Gerard P, Vauthier E, Sainte-Laudy J, Longrois D, Gueant JL, Mallie JP: **Constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improves the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but decreases the survival time in brown norway rats anaphylactic shock**. *Shock* 2003, **19**(1):71-78.

36. Zhang W, Shibamoto T, Cui S, Takano H, Kurata Y: **7-nitroindazole, but not L-NAME or aminoguanidine, attenuates anaphylactic hypotension in conscious rats**. *Shock* 2009, **31**(2):201-206.

37. Ndrepepa G, Schomig A, Kastrati A: **Lack of benefit from nitric oxide synthase inhibition in patients with cardiogenic shock: looking for the reasons**. *JAMA* 2007, **297**(15):1711-1713.

38. Wainwright M, Crossley KB: **Methylene Blue--a therapeutic dye for all seasons?** *J Chemother* 2002, **14**(5):431-443.

39. Barnes RD, Ward LE, Frank KP, Tyce GM, Hunter LW, Rorie DK: **Nitric oxide modulates evoked catecholamine release from canine adrenal medulla**. *Neuroscience* 2001, **104**(4):1165-1173.

40. Kolo LL, Westfall TC, Macarthur H: **Nitric oxide decreases the biological activity of norepinephrine resulting in altered vascular tone in the rat mesenteric arterial bed**. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, **286**(1):H296-303.

41. Ward LE, Hunter LW, Grabau CE, Tyce GM, Rorie DK: **Nitric oxide reduces basal efflux of catecholamines from perfused dog adrenal glands**. *J Auton Nerv Syst* 1996, **61**(3):235-242.

42. Peter C, Hongwan D, Kupfer A, Lauterburg BH: **Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue**. *Eur J Clin Pharmacol* 2000, **56**(3):247-250.

43. Kupfer A, Aeschlimann C, Cerny T: **Methylene blue and the neurotoxic mechanisms of ifosfamide encephalopathy**. *Eur J Clin Pharmacol* 1996, **50**(4):249-252.

44. Naylor GJ, Martin B, Hopwood SE, Watson Y: **A two-year double-blind crossover trial of the prophylactic effect of methylene blue in manic-depressive psychosis**. *Biol Psychiatry* 1986, **21**(10):915-920.

45. Miclescu A, Basu S, Wiklund L: **Cardio-cerebral and metabolic effects of methylene blue in hypertonic sodium lactate during experimental cardiopulmonary resuscitation**. *Resuscitation* 2007, **75**(1):88-97.

46. Wiklund L, Basu S, Miclescu A, Wiklund P, Ronquist G, Sharma HS: **Neuro- and cardioprotective effects of blockade of nitric oxide action by administration of methylene blue**. *Ann N Y Acad Sci* 2007, **1122**:231-244.

47. Martijn C, Wiklund L: **Effect of methylene blue on the genomic response to reperfusion injury induced by cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in porcine brain**. *BMC Med Genomics* 2010, **3**:27.

48. Rolla G, Nebiolo F, Guida G, Heffler E, Bommarito L, Bergia R: Level of exhaled nitric oxide during human anaphylaxis. Ann Allergy Asthma Immunol 2006, 97(2):264-265.

49. Gupta A, Lin RY, Pesola GR, Bakalchuk L, Curry A, Lee H-s, Knight RJ, Tenenbaum C, Westfal RE: Nitric Oxide Levels in Patients with Acute Allergic Reactions. Internet Journal of Asthma, Allergy and Immunology 2003, 3(1)

II.3.5. Résultats et synthèse de la publication

Notre travail décrit à la fois les conséquences physiopathologiques cérébrales du choc anaphylactique et l'impact de la modulation de la production de NO seule ou en association avec l'adrénaline. L'autorégulation du débit sanguin cérébral, système de protection vis-à-vis de l'ischémie, est défaillante quel que soit le traitement utilisé. Elle est dépassée face à la sévérité de l'hypotension artérielle induite par le choc et l'association adrénaline-bleu de méthylène semble être le seul traitement pouvant empêcher la survenue de l'ischémie cérébrale.

Dans la plupart des cas, le BM était administré, soit en bolus, soit en perfusion continue en association avec l'AD(Evora and Simon 2007). Dans notre étude, nous avons administré un bolus unique de 3 mg/kg de BM, une dose similaire aux doses thérapeutiques considérées comme efficaces, non-nocives et utilisées dans d'autres types d'hypotension artérielle réfractaire. Bien que des doses de 5 à 7.5 mg/kg soient habituellement bien tolérées(Evora and Simon 2007), l'utilisation d'une dose de 4 mg/kg maximum a été recommandée, la dose létale 50 chez le mouton étant estimée à 40mg/kg(Burrows 1984).

Dans notre étude, l'administration de BM est bénéfique, permet d'accélérer la restauration d'une pression de perfusion et de limiter les conséquences de l'ischémie cérébrale induite par le choc anaphylactique. En tant que traitement curatif du choc anaphylactique et non en prémédication, le bleu de méthylène en association avec l'adrénaline restaure plus efficacement que l'adrénaline seule la pression de perfusion cérébrale et limite les conséquences ischémiques et hypoxiques cérébrales de l'état de choc. Par son action inhibitrice sur la guanylate cyclase, il a limité la dysfonction vasculaire et l'hypotension induites par la libération de NO, un des principaux seconds messagers des médiateurs libérés lors du choc anaphylactique. De plus par ses actions anti-oxydantes (accepteur d'électron), il semble exercer une action neuroprotectrice. Grâce à ces deux propriétés il a limité les conséquences ischémiques cérébrales du choc anaphylactique.

Notre étude a également montré qu'il existe une discordance entre la correction de l'hypotension artérielle et la persistance d'un débit cardiaque très bas après le traitement du choc anaphylactique. Cela suggère que, en pratique clinique courante, bien qu'une correction partielle

ou totale de l'hypotension artérielle soit obtenue, il peut persister une réduction importante du débit cardiaque.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

I. Conclusion

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de la problématique générale développée depuis plusieurs années par notre équipe de recherche concernant les nouveaux aspects de la physiophathologie et de la thérapeutique du choc anaphylactique au cours de la période péri-opératoire.

Les changements hémodynamiques observés pendant un choc anaphylactique sévère incluent une vasodilatation, une fuite capillaire et une altération du flux sanguin microcirculatoire, ce qui entraîne une redistribution du débit sanguin régional. La diminution du débit tissulaire dans les compartiments adaptatifs tels que le muscle squelettique est associée à la persistance d'un métabolisme oxydatif et de la glycolyse responsable d'altérations métaboliques rapidement irréversibles. Dans le même temps, la redistribution des débits vers les organes nobles tel que le cerveau est rapidement compromise. Enfin, l'atteinte respiratoire classiquement caractérisée par la survenue d'un bronchospasme s'accompagne d'un œdème bronchique responsable d'une altération importante de l'élastance pulmonaire.

L'adrénaline et des fluides classiques sont parfois inefficaces à inverser complètement les anomalies circulatoires et métaboliques chez les patients en choc anaphylactique, conduisant à explorer de nouvelles voies thérapeutiques. L'utilisation d'adjuvant tels que le BM et de soluté macromoléculaires permet une restauration plus rapide et plus complète des paramètres hémodynamiques, métaboliques et respiratoires alors que l'utilisation de vasopresseurs alternatifs tel que la vasopressine ou de solutés salé hypertonique s'avère moins efficace. L'AVP ayant été proposée comme pivot de la prise en charge du choc anaphylactique réfractaire (Schummer, Wirsing et al. 2008), la question de son utilisation en première intention pouvait légitimement être soulevée, mais l'AVP n'a pas tenu ses promesses dans notre modèle. Nos résultats renforcent l'idée que l'adrénaline doit, à l'heure actuelle, rester le traitement de première intention au cours du choc anaphylactique.

II. Perspectives

Dans la continuité de ce travail, un certain nombre d'études complémentaires sont d'ores et déjà envisagées

- En ce qui concerne la physiopathologie du choc anaphylactique, une étude portant sur les altérations de la respiration cellulaire et de la fonction mitochondriale est en cours

- En ce qui concerne la physiopathologie de l'hémostase, une étude portant sur les altérations de l'hémostase du choc anaphylactique est en cours.

- En ce qui concerne la recherche de nouvelles modalités thérapeutiques, l'intérêt de l'utilisation, seule ou en association à l'adrénaline d'un antagoniste du PAF est également envisagée

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abuaf, N., B. Rajoely, et al. (1999). "Validation of a flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of muscle relaxant allergy." J Allergy Clin Immunol **104**(2 Pt 1): 411-418.

Alfieri, A. B., M. Tramontana, et al. (2007). "Heterogeneous effect of leucotriene CysLT1 receptor antagonists on antigen-induced motor and inflammatory responses in guinea-pig airways." Auton Autacoid Pharmacol **27**(1): 39-46.

Allmers, H., R. Brehler, et al. (1998). "Reduction of latex aeroallergens and latex-specific IgE antibodies in sensitized workers after removal of powdered natural rubber latex gloves in a hospital." J Allergy Clin Immunol **102**(5): 841-846.

Amir, S. and A. M. English (1991). "An inhibitor of nitric oxide production, NG-nitro-L-arginine-methyl ester, improves survival in anaphylactic shock." Eur J Pharmacol **203**(1): 125-127.

Arias, K., M. Baig, et al. (2009). "Concurrent blockade of platelet-activating factor and histamine prevents life-threatening peanut-induced anaphylactic reactions." J Allergy Clin Immunol **124**(2): 307-314, 314 e301-302.

Axon, A. D. and J. M. Hunter (2004). "Editorial III: Anaphylaxis and anaesthesia--all clear now?" Br J Anaesth **93**(4): 501-504.

Bachert, C. (2002). "The role of histamine in allergic disease: re-appraisal of its inflammatory potential." Allergy **57**(4): 287-296.

Bakker, R. A., H. Timmerman, et al. (2002). "Histamine receptors: specific ligands, receptor biochemistry, and signal transduction." Clin Allergy Immunol **17**: 27-64.

Banchereau, J., S. Paczesny, et al. (2003). "Dendritic cells: controllers of the immune system and a new promise for immunotherapy." Ann N Y Acad Sci **987**: 180-187.

Baumann, A., D. Studnicska, et al. (2009). "Refractory anaphylactic cardiac arrest after succinylcholine administration." Anesth Analg **109**(1): 137-140.

Bayat, S., S. Strengell, et al. (2009). "Methacholine and ovalbumin challenges assessed by forced oscillations and synchrotron lung imaging." Am J Respir Crit Care Med **180**(4): 296-303.

Beaupre, P. N., M. F. Roizen, et al. (1984). "Hemodynamic and two-dimensional transesophageal echocardiographic analysis of an anaphylactic reaction in a human." Anesthesiology **60**(5): 482-484.

Bellou, A., H. Lambert, et al. (2003). "Constitutive nitric oxide synthase inhibition combined with histamine and serotonin receptor blockade improves the initial ovalbumin-induced arterial hypotension but decreases the survival time in brown norway rats anaphylactic shock." Shock **19**(1): 71-78.

Best, N., B. Teisner, et al. (1983). "Classical pathway activation during an adverse response to protamine sulphate." Br J Anaesth **55**(11): 1149-1153.

Bezu, C., C. Coutant, et al. "Anaphylactic response to blue dye during sentinel lymph node biopsy." Surg Oncol.

Bhananker, S. M., J. T. O'Donnell, et al. (2005). "The risk of anaphylactic reactions to rocuronium in the United States is comparable to that of vecuronium: an analysis of food and drug administration reporting of adverse events." Anesth Analg **101**(3): 819-822, table of contents.

Bieber, T. (2007). "The pro- and anti-inflammatory properties of human antigen-presenting cells expressing the high affinity receptor for IgE (Fc epsilon RI)." Immunobiology **212**(6): 499-503.

Birnbaum, J., F. Porri, et al. (1994). "Allergy during anaesthesia." Clin Exp Allergy **24**(10): 915-921.

Birnbaum, J. and D. Vervloet (1991). "Allergy to muscle relaxants." Clin Rev Allergy **9**(3-4): 281-293.

Boumiza, R., A. L. Debard, et al. (2005). "The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives." Clin Mol Allergy **3**: 9.

Boumiza, R., G. Monneret, et al. (2003). "Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63." Clin Exp Allergy **33**(2): 259-265.

Brian, J. E., Jr. (1998). "Carbon dioxide and the cerebral circulation." Anesthesiology **88**(5): 1365-1386.

Brown, S. G. (2005). "Cardiovascular aspects of anaphylaxis: implications for treatment and diagnosis." Curr Opin Allergy Clin Immunol **5**(4): 359-364.

Bruder, N., B. Cohen, et al. (1998). "The effect of hemodilution on cerebral blood flow velocity in anesthetized patients." Anesth Analg **86**(2): 320-324.
Burrows, G. E. (1984). "Methylene blue: effects and disposition in sheep." J Vet Pharmacol Ther **7**(3): 225-231.
Buzato, M. A., F. Viaro, et al. (2005). "The use of methylene blue in the treatment of anaphylactic shock induced by compound 48/80: experimental studies in rabbits." Shock **23**(6): 582-587.
Cauwels, A. (2007). "Nitric oxide in shock." Kidney Int **72**(5): 557-565.
Cauwels, A., B. Janssen, et al. (2006). "Anaphylactic shock depends on PI3K and eNOS-derived NO." J Clin Invest **116**(8): 2244-2251.
Cervera, A. L. and G. Moss (1975). "Progressive hypovolemia leading to shock after continuous hemorrhage and 3:1 crystalloid replacement." Am J Surg **129**(6): 670-674.
Chazot, P. L. and V. Hann (2001). "Overview: H3 histamine receptor isoforms: new therapeutic targets in the CNS?" Curr Opin Investig Drugs **2**(10): 1428-1431.
Choi, I. H., Y. M. Shin, et al. (1998). "Immunoglobulin E-dependent active fatal anaphylaxis in mast cell-deficient mice." The Journal of Experimental Medicine **188**(9): 1587-1592.
Chrusch, C., S. Sharma, et al. (1999). "Histamine H3 receptor blockade improves cardiac function in canine anaphylaxis." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine **160**(4): 1142-1149.
Chrusch, C., S. Sharma, et al. (1999). "Histamine H3 receptor blockade improves cardiac function in canine anaphylaxis." Am J Respir Crit Care Med **160**(4): 1142-1149.
Cimmino, V. M., A. C. Brown, et al. (2001). "Allergic reactions to isosulfan blue during sentinel node biopsy--a common event." Surgery **130**(3): 439-442.
Coelho, A. M., V. Ossovskaya, et al. (2003). "Proteinase-activated receptor-2: physiological and pathophysiological roles." Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents **1**(1): 61-72.
Compton, J. (1997). "Use of glucagon in intractable allergic reactions and as an alternative to epinephrine: an interesting case review." J Emerg Nurs **23**(1): 45-47.
Correa, E., S. Mink, et al. (1991). "Left ventricular contractility is depressed in IgE-mediated anaphylactic shock in dogs." The American Journal of Physiology **260**(3 Pt 2): H744-751.
Correa, E., S. Mink, et al. (1991). "Left ventricular contractility is depressed in IgE-mediated anaphylactic shock in dogs." Am J Physiol **260**(3 Pt 2): H744-751.
Cui, S., T. Shibamoto, et al. (2008). "Venous resistance increases during rat anaphylactic shock." Shock (Augusta, Ga.) **29**(6): 733-739.
Cui, S., T. Shibamoto, et al. (2008). "Venous resistance increases during rat anaphylactic shock." Shock **29**(6): 733-739.
Currie, M., R. K. Webb, et al. (1993). "The Australian Incident Monitoring Study. Clinical anaphylaxis: an analysis of 2000 incident reports." Anaesth Intensive Care **21**(5): 621-625.
Davidson, J., F. Zheng, et al. (2012). "Anaphylactic shock decreases cerebral blood flow more than what would be expected from severe arterial hypotension." Shock **38**(4): 429-435.
Davis, D. H. and T. M. Sundt, Jr. (1980). "Relationship of cerebral blood flow to cardiac output, mean arterial pressure, blood volume, and alpha and beta blockade in cats." J Neurosurg **52**(6): 745-754.
de Felippe, J., Jr., J. Timoner, et al. (1980). "Treatment of refractory hypovolaemic shock by 7.5% sodium chloride injections." Lancet **2**(8202): 1002-1004.
de Weck, A. L. (1993). "Immunochemical particularities of anaphylactic reactions to compounds used in anesthesia." Ann Fr Anesth Reanim **12**(2): 126-130.
de Weck, A. L., M. L. Sanz, et al. (2008). "Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls." Int Arch Allergy Immunol **146**(3): 177-189.
Del Duca, D., S. S. Sheth, et al. (2009). "Use of methylene blue for catecholamine-refractory vasoplegia from protamine and aprotinin." Ann Thorac Surg **87**(2): 640-642.
Dewachter, P., S. Castro, et al. (2011). "Anaphylactic reaction after methylene blue-treated plasma transfusion." Br J Anaesth **106**(5): 687-689.

Dewachter, P., V. Jouan-Hureaux, et al. (2005). "Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption." Anesthesiology **103**(1): 40-49.
Dewachter, P., V. Jouan-Hureaux, et al. (2005). "Anaphylactic shock: a form of distributive shock without inhibition of oxygen consumption." Anesthesiology **103**(1): 40-49.
Dewachter, P., V. Jouan-Hureaux, et al. (2006). "Comparison of arginine vasopressin, terlipressin, or epinephrine to correct hypotension in a model of anaphylactic shock in anesthetized brown Norway rats." Anesthesiology **104**(4): 734-741.
Dewachter, P., C. Mouton-Faivre, et al. (2005). "Severe anaphylactic shock with methylene blue instillation." Anesth Analg **101**(1): 149-150, table of contents.
Dewachter, P., I. Raeth-Fries, et al. (2007). "A comparison of epinephrine only, arginine vasopressin only, and epinephrine followed by arginine vasopressin on the survival rate in a rat model of anaphylactic shock." Anesthesiology **106**(5): 977-983.
Dong, S. W., P. M. Mertes, et al. (2012). "Hypersensitivity reactions during anesthesia. Results from the ninth French survey (2005-2007)." Minerva Anestesiol **78**(8): 868-878.
Dunser, M. W., C. Torgersen, et al. (2008). "Treatment of anaphylactic shock: where is the evidence?" Anesth Analg **107**(2): 359-361.
Ebo, D. G., M. M. Hagendorens, et al. (2008). "Scandinavian Clinical Practice Guidelines on the diagnosis, management and follow-up of anaphylaxis during anaesthesia: some diagnostic issues." Acta Anaesthesiol Scand **52**(2): 314-315.
Ebo, D. G., J. Sainte-Laudy, et al. (2006). "Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives." Allergy **61**(9): 1028-1039.
Ellis, K. M., C. Cannet, et al. (2004). "Airway hyperresponsiveness to bradykinin induced by allergen challenge in actively sensitised Brown Norway rats." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **369**(2): 166-178.
Ellis, K. M., L. Mazzoni, et al. (2003). "Role of endogenous adenosine in the acute and late response to allergen challenge in actively sensitized Brown Norway rats." Br J Pharmacol **139**(6): 1212-1218.
Escolano, F., A. Valero, et al. (2002). "[Prospective epidemiologic study of perioperative anaphylactoid reactions occurring in Catalonia (1996-7)]." Rev Esp Anestesiol Reanim **49**(6): 286-293.
Evora, P. R. and M. R. Simon (2007). "Role of nitric oxide production in anaphylaxis and its relevance for the treatment of anaphylactic hypotension with methylene blue." Ann Allergy Asthma Immunol **99**(4): 306-313.
Finkelman, F. D., M. E. Rothenberg, et al. (2005). "Molecular mechanisms of anaphylaxis: lessons from studies with murine models." J Allergy Clin Immunol **115**(3): 449-457; quiz 458.
Fisher, M. (2004). "Anaphylaxis to anaesthetic drugs." Novartis Found Symp **257**: 193-202; discussion 202-110, 276-185.
Fisher, M. and B. A. Baldo (1994). "Anaphylaxis during anaesthesia: current aspects of diagnosis and prevention." Eur J Anaesthesiol **11**(4): 263-284.
Fisher, M. M. (1986). "Clinical observations on the pathophysiology and treatment of anaphylactic cardiovascular collapse." Anaesth Intensive Care **14**(1): 17-21.
Fisher, M. M. and B. A. Baldo (1992). "Persistence of allergy to anaesthetic drugs." Anaesth Intensive Care **20**(2): 143-146.
Fisher, M. M. and B. A. Baldo (1993). "The diagnosis of fatal anaphylactic reactions during anaesthesia: employment of immunoassays for mast cell tryptase and drug-reactive IgE antibodies." Anaesth Intensive Care **21**(3): 353-357.
Fisher, M. M. and D. G. More (1981). "The epidemiology and clinical features of anaphylactic reactions in anaesthesia." Anaesth Intensive Care **9**(3): 226-234.
Fleming, I. and R. Busse (2003). "Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **284**(1): R1-12.

Florvaag, E., S. G. Johansson, et al. (2005). "Prevalence of IgE antibodies to morphine. Relation to the high and low incidences of NMBA anaphylaxis in Norway and Sweden, respectively." Acta Anaesthesiol Scand **49**(4): 437-444.
Fox, A. W., R. E. May, et al. (1992). "Comparison of peptide and nonpeptide receptor-mediated responses in rat tail artery." J Cardiovasc Pharmacol **20**(2): 282-289.
Frank, M. M. (2008). "8. Hereditary angioedema." J Allergy Clin Immunol **121**(2 Suppl): S398-401; quiz S419.
Friebe, A. and D. Koesling (2003). "Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase." Circ Res **93**(2): 96-105.
Fugner, A. (1977). "Inhibition of antigen-induced histamine release by beta-adrenergic stimulants in vivo." Int Arch Allergy Appl Immunol **54**(1): 78-87.
Fujiyoshi, N., E. A. Deitch, et al. (2005). "Amiloride combined with small-volume resuscitation with hypertonic saline is superior in ameliorating trauma-hemorrhagic shock-induced lung injury in rats to the administration of either agent alone." Crit Care Med **33**(11): 2592-2598.
Fukuda, Y., H. Kawashima, et al. (2000). "Effect of human plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in two anaphylactic shock models." Eur J Pharmacol **390**(1-2): 203-207.
Galletly, D. C. and B. C. Treuren (1985). "Anaphylactoid reactions during anaesthesia. Seven years' experience of intradermal testing." Anaesthesia **40**(4): 329-333.
Galli, S. J. and C. B. Franco (2008). "Basophils are back!" Immunity **28**(4): 495-497.
Garvey, L. H., M. Kroigaard, et al. (2007). "IgE-mediated allergy to chlorhexidine." J Allergy Clin Immunol **120**(2): 409-415.
Garvey, L. H., J. Roed-Petersen, et al. (2001). "Danish Anaesthesia Allergy Centre - preliminary results." Acta Anaesthesiol Scand **45**(10): 1204-1209.
Genovese, A., F. W. Rossi, et al. (2010). "Human cardiac mast cells in anaphylaxis." Chem Immunol Allergy **95**: 98-109.
Genovese, A., C. Stellato, et al. (1996). "Role of mast cells, basophils and their mediators in adverse reactions to general anesthetics and radiocontrast media." Int Arch Allergy Immunol **110**(1): 13-22.
Golanov, E. V. and D. J. Reis (1996). "Contribution of oxygen-sensitive neurons of the rostral ventrolateral medulla to hypoxic cerebral vasodilatation in the rat." J Physiol **495 (Pt 1)**: 201-216.
Green, R. and A. Ball (2005). "Alpha-agonists for the treatment of anaphylactic shock." Anaesthesia **60**(6): 621-622.
Gueant, J. L., I. Aimone-Gastin, et al. (1998). "Diagnosis and pathogenesis of the anaphylactic and anaphylactoid reactions to anaesthetics." Clin Exp Allergy **28 Suppl 4**: 65-70.
Guo, H., N. Tierney, et al. (2006). "Cerebral autoregulation is preserved during orthostatic stress superimposed with systemic hypotension." J Appl Physiol **100**(6): 1785-1792.
Gupta, A. K., D. K. Menon, et al. (1997). "Thresholds for hypoxic cerebral vasodilation in volunteers." Anesth Analg **85**(4): 817-820.
Guttormsen, A. B., S. G. Johansson, et al. (2007). "No consumption of IgE antibody in serum during allergic drug anaphylaxis." Allergy **62**(11): 1326-1330.
Hamu, Y., Y. Kanmura, et al. (1999). "The effects of vasopressin on endotoxin-induced attenuation of contractile responses in human gastroepiploic arteries in vitro." Anesth Analg **88**(3): 542-548.
Harboe, T., A. B. Guttormsen, et al. (2005). "Anaphylaxis during anesthesia in Norway: a 6-year single-center follow-up study." Anesthesiology **102**(5): 897-903.
Harper, N. J., T. Dixon, et al. (2009). "Suspected anaphylactic reactions associated with anaesthesia." Anaesthesia **64**(2): 199-211.
He, S. and A. F. Walls (1997). "Human mast cell tryptase: a stimulus of microvascular leakage and mast cell activation." Eur J Pharmacol **328**(1): 89-97.
Heck, D. A. and D. B. Bylund (1997). "Mechanism of down-regulation of alpha-2 adrenergic receptor subtypes." J Pharmacol Exp Ther **282**(3): 1219-1227.

Hele, D. J., M. A. Birrell, et al. (2001). "Mediator involvement in antigen-induced bronchospasm and microvascular leakage in the airways of ovalbumin sensitized Brown Norway rats." Br J Pharmacol **132**(2): 481-488.
Heytman, M. and A. Rainbird (2004). "Use of alpha-agonists for management of anaphylaxis occurring under anaesthesia: case studies and review." Anaesthesia **59**(12): 1210-1215.
Hiruta, A., H. Mitsuhata, et al. (2005). "Vasopressin may be useful in the treatment of systemic anaphylaxis in rabbits." Shock **24**(3): 264-269.
Homma, H., E. A. Deitch, et al. (2005). "Small volume resuscitation with hypertonic saline is more effective in ameliorating trauma-hemorrhagic shock-induced lung injury, neutrophil activation and red blood cell dysfunction than pancreatitic protease inhibition." J Trauma **59**(2): 266-272.
Hou, V. Y., C. A. Hirshman, et al. (1998). "Neuromuscular relaxants as antagonists for M2 and M3 muscarinic receptors." Anesthesiology **88**(3): 744-750.
Hussain, A. M., B. Yousuf, et al. (2008). "Vasopressin for the management of catecholamine-resistant anaphylactic shock." Singapore Med J **49**(9): e225-228.
Iadecola, C. (1992). "Does nitric oxide mediate the increases in cerebral blood flow elicited by hypercapnia?" Proc Natl Acad Sci U S A **89**(9): 3913-3916.
Inagaki, N., H. Kawasaki, et al. (1997). "Inhibitory mechanisms of beta-adrenoceptor agonists for immunoglobulin E-mediated experimental allergic reactions in rats." Eur J Pharmacol **336**(2-3): 225-231.
Ishii, S., T. Kuwaki, et al. (1998). "Impaired anaphylactic responses with intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor." J Exp Med **187**(11): 1779-1788.
Ishimura, N., K. Kitaguchi, et al. (1996). "Nitric oxide involvement in hypoxic dilation of pial arteries in the cat." Anesthesiology **85**(6): 1350-1356.
Itoh, Y., T. Sendo, et al. (2005). "Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): role of tryptase/PAR-2 in vascular endothelial barrier function." J Pharmacol Sci **97**(1): 14-19.
Johansson, S. G., T. Bieber, et al. (2004). "Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003." J Allergy Clin Immunol **113**(5): 832-836.
Jonsson, F., D. A. Mancardi, et al. (2012). "Human FcgammaRIIA induces anaphylactic and allergic reactions." Blood **119**(11): 2533-2544.
Jooste, E., F. Klafter, et al. (2003). "A mechanism for rapacuronium-induced bronchospasm: M2 muscarinic receptor antagonism." Anesthesiology **98**(4): 906-911.
Jooste, E., Y. Zhang, et al. (2005). "Rapacuronium preferentially antagonizes the function of M2 versus M3 muscarinic receptors in guinea pig airway smooth muscle." Anesthesiology **102**(1): 117-124.
Jungheinrich, C. and T. A. Neff (2005). "Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch." Clin Pharmacokinet **44**(7): 681-699.
Kam, P. C., S. Williams, et al. (2004). "Vasopressin and terlipressin: pharmacology and its clinical relevance." Anaesthesia **59**(10): 993-1001.
Kanke, T., T. Takizawa, et al. (2005). "Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): PAR-2 as a potential therapeutic target." J Pharmacol Sci **97**(1): 38-42. Epub 2005 Jan 2015.
Kapin, M. A. and J. L. Ferguson (1985). "Hemodynamic and regional circulatory alterations in dog during anaphylactic challenge." Am J Physiol Heart Circ Physiol **249**(2): H430-437.
Karasawa, N., T. Shibamoto, et al. (2007). "Hepatic pre-sinusoidal vessels contract in anaphylactic hypotension in rabbits." Acta Physiologica (Oxford, England) **189**(1): 15-22.
Karasawa, N., T. Shibamoto, et al. (2007). "Hepatic pre-sinusoidal vessels contract in anaphylactic hypotension in rabbits." Acta Physiol (Oxf) **189**(1): 15-22.
Khrais, J. and S. M. Ouellette (1995). "Mechanisms and management of allergic reactions in the surgical patient." CRNA **6**(4): 146-158.

Kill, C., E. Wranze, et al. (2004). "Successful treatment of severe anaphylactic shock with vasopressin. Two case reports." Int Arch Allergy Immunol **134**(3): 260-261.
Kim, S. H. and H. S. Park (2006). "Pathogenesis of nonsteroidal antiinflammatory drug-induced asthma." Curr Opin Allergy Clin Immunol **6**(1): 17-22.
Kishimoto, T. K., K. Viswanathan, et al. (2008). "Contaminated heparin associated with adverse clinical events and activation of the contact system." N Engl J Med **358**(23): 2457-2467.
Knowles, S. R., A. M. Drucker, et al. (2007). "Management options for patients with aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drug sensitivity." Ann Pharmacother **41**(7): 1191-1200.
Koppert, W., J. A. Blunk, et al. (2001). "Different patterns of mast cell activation by muscle relaxants in human skin." Anesthesiology **95**(3): 659-667.
Kreimeier, U., F. Christ, et al. (1995). "Anaphylaxis due to hydroxyethyl-starch-reactive antibodies." Lancet **346**(8966): 49-50.
Kroigaard, M., L. H. Garvey, et al. (2005). "Allergic reactions in anaesthesia: are suspected causes confirmed on subsequent testing?" Br J Anaesth **95**(4): 468-471.
Laake, J. H. and J. A. Rottingen (2001). "Rocuronium and anaphylaxis--a statistical challenge." Acta Anaesthesiol Scand **45**(10): 1196-1203.
Landry, D. W., H. R. Levin, et al. (1997). "Vasopressin pressor hypersensitivity in vasodilatory septic shock." Crit Care Med **25**(8): 1279-1282.
Landry, D. W. and J. A. Oliver (2001). "The pathogenesis of vasodilatory shock." N Engl J Med **345**(8): 588-595.
Laroche, D., I. Aimone-Gastin, et al. (1998). "Mechanisms of severe, immediate reactions to iodinated contrast material." Radiology **209**(1): 183-190.
Laroche, D., F. Dubois, et al. (1995). "Radioimmunoassay for plasma histamine: a study of false positive and false negative values." Br J Anaesth **74**(4): 430-437.
Laroche, D., F. Dubois, et al. (1992). "Early biological markers of anaphylactoid reactions occurring during anesthesia." Ann Fr Anesth Reanim **11**(6): 613-618.
Laroche, D., C. Lefrancois, et al. (1992). "Early diagnosis of anaphylactic reactions to neuromuscular blocking drugs." Br J Anaesth **69**(6): 611-614.
Laroche, D., F. Namour, et al. (1999). "Anaphylactoid and anaphylactic reactions to iodinated contrast material." Allergy **54**(Suppl 58): 13-16.
Laroche, D., M. C. Vergnaud, et al. (1991). "Biochemical markers of anaphylactoid reactions to drugs. Comparison of plasma histamine and tryptase." Anesthesiology **75**(6): 945-949.
Lasser, E. C., J. H. Lang, et al. (1979). "Complement and contrast material reactors." J Allergy Clin Immunol **64**(2): 105-112.
Laxenaire, M., P. M. Mertes, et al. (2001). "Anaphylaxis during anaesthesia. Results of a 2 year survey in France." Br J Anaesth **21**(1): 549-558.
Laxenaire, M. C. (1999). "Epidémiologie des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Quatrième enquête multicentrique (juillet 1994-décembre 1996)." Ann Fr Anesth Reanim **18**: 796-809.
Laxenaire, M. C. (2002). "Prévention du risque allergique en anesthésie : recommandations pour la pratique clinique. Epidémiologie." Ann Fr Anesth Reanim **21**(S1): 38-54.
Laxenaire, M. C., C. Charpentier, et al. (1994). "Anaphylactoid reactions to colloid plasma substitutes: incidence, risk factors, mechanisms. A French multicenter prospective study." Ann Fr Anesth Reanim **13**(3): 301-310.
Laxenaire, M. C., C. Charpentier, et al. (1994). "[Anaphylactoid reactions to colloid plasma substitutes: incidence, risk factors, mechanisms. A French multicenter prospective study]." Ann Fr Anesth Reanim **13**(3): 301-310.
Laxenaire, M. C. and D. A. Moneret-Vautrin (1992). "Allergy and anaesthesia." Current Opinion in anaesthesiology **5**: 436-441.
Laxenaire, M. C., D. A. Moneret-Vautrin, et al. (1990). "[Anesthetics responsible for anaphylactic shock. A French multicenter study]." Ann Fr Anesth Reanim **9**(6): 501-506.
Laxenaire, M. C., C. Mouton, et al. (1996). "Anaphylactic shock after tourniquet removal in orthopedic surgery." Ann Fr Anesth Reanim **15**(2): 179-184.

Lee, M. L. (1982). "Glucagon in anaphylaxis." J Allergy Clin Immunol **69**(3): 331-332.
Lehmann, G. B., F. Asskali, et al. (2007). "HES 130/0.42 shows less alteration of pharmacokinetics than HES 200/0.5 when dosed repeatedly." Br J Anaesth **98**(5): 635-644.
Leimgruber, A. (2008). "[Allergic reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs]." Rev Med Suisse **4**(140): 100-103.
Leynadier, F., C. Calinaux, et al. (1989). "Predictive value of intradermal tests using muscle-relaxing drugs." Ann Fr Anesth Reanim **8**(2): 98-101.
Li, H. and U. Forstermann (2000). "Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease." J Pathol **190**(3): 244-254.
Lie, W. J., C. H. Homburg, et al. (2003). "Regulation and kinetics of platelet-activating factor and leukotriene C4 synthesis by activated human basophils." Clin Exp Allergy **33**(8): 1125-1134.
Light, K. P., A. T. Lovell, et al. (2006). "Adverse effects of neuromuscular blocking agents based on yellow card reporting in the U.K.: are there differences between males and females?" Pharmacoepidemiol Drug Saf **15**(3): 151-160.
Liu, W., H. Takano, et al. (2007). "Involvement of splanchnic vascular bed in anaphylactic hypotension in anesthetized BALB/c mice." American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology **293**(5): R1947-1953.
Liu, W., H. Takano, et al. (2007). "Involvement of splanchnic vascular bed in anaphylactic hypotension in anesthetized BALB/c mice." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **293**(5): R1947-1953.
Longrois, D., C. Lejus, et al. (2011). "[Treatment of hypersensitivity reactions and anaphylactic shock occurring during anaesthesia]." Ann Fr Anesth Reanim **30**(3): 312-322.
Lorenz, W., D. Duda, et al. (1994). "Incidence and clinical importance of perioperative histamine release: randomised study of volume loading and antihistamines after induction of anaesthesia. Trial Group Mainz/Marburg." Lancet **343**(8903): 933-940.
Malinovsky, J. M., S. Decagny, et al. (2008). "Systematic follow-up increases incidence of anaphylaxis during adverse reactions in anesthetized patients." Acta Anaesthesiol Scand **52**(2): 175-181.
Mancardi, D. A., M. Albanesi, et al. (2013). "The high-affinity human IgG receptor FcgammaRI (CD64) promotes IgG-mediated inflammation, anaphylaxis, and antitumor immunotherapy." Blood **121**(9): 1563-1573.
Mancardi, D. A., B. Iannascoli, et al. (2008). "FcgammaRIV is a mouse IgE receptor that resembles macrophage FcepsilonRI in humans and promotes IgE-induced lung inflammation." J Clin Invest **118**(11): 3738-3750.
Martin, P., C. Auboyer, et al. (2000). Bronchospasme peropératoire. SFAR. e. S. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Paris**:** 259-277.
Mata, E., J. L. Gueant, et al. (1992). "Clinical evaluation of in vitro leukocyte histamine release in allergy to muscle relaxant drugs." Allergy **47**(5): 471-476.
McKinley, B. A. and B. D. Butler (1999). "Comparison of skeletal muscle PO2, PCO2, and pH with gastric tonometric P(CO2) and pH in hemorrhagic shock." Crit Care Med **27**(9): 1869-1877.
McKinnon, R. P. and C. J. Sinclair (1994). "Angiotensinamide in the treatment of probable anaphylaxis to succinylated gelatin (Gelofusine)." Anaesthesia **49**(4): 309-311.
Meng, L. and E. L. Williams (2008). "Case report: treatment of rocuronium-induced anaphylactic shock with vasopressin." Can J Anaesth **55**(7): 437-440.
Mertes, P., I. Aimone-Gastin, et al. (2008). "Hypersensitivity Reactions to Neuromuscular Blocking Agents." in press.
Mertes, P. and M. C. Laxenaire (2006). Anaphylaxie. Physiologie humaine appliquée. Rueil-Malmaison, Arnette**:** 959-076.
Mertes, P. M., F. Alla, et al. (2003). "Anaphylactic and anaphylactoid reactions occurring during anesthesia in France in 1999-2000." Anesthesiology **99**: 536-545.
Mertes, P. M., F. Alla, et al. (2011). "Anaphylaxis during anesthesia in France: An 8-year national survey." J Allergy Clin Immunol.
Mertes, P. M., F. Alla, et al. (2011). "Anaphylaxis during anesthesia in France: an 8-year national survey." J Allergy Clin Immunol **128**(2): 366-373.

Mertes, P. M., P. Demoly, et al. (2012). "Hypersensitivity reactions in the anesthesia setting/allergic reactions to anesthetics." Curr Opin Allergy Clin Immunol **12**(4): 361-368.
Mertes, P. M., P. Dewachter, et al. (2003). "Complications anaphylactiques et anaphylactoïdes de l'anesthésie générale." Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Anesthésie-Réanimation, 36-410-A-10: 15p.
Mertes, P. M., A. B. Guttormsen, et al. (2007). "Can spontaneous adverse event reporting systems really be used to compare rates of adverse events between drugs?" Anesth Analg **104**(2): 471-472.
Mertes, P. M., C. Karila, et al. (2011). "[What is reality of anaphylactoid reactions during anaesthesia? Classification, prevalence, clinical features, drugs involved and morbidity and mortality.]." Ann Fr Anesth Reanim **30**(3): 223-239.
Mertes, P. M., M. Lambert, et al. (2009). "Perioperative anaphylaxis." Immunol Allergy Clin North Am **29**(3): 429-451.
Mertes, P. M. and M. Laxenaire (2000). "Anaphylaxis during general anaesthesia. Prevention and management." CNS Drugs **14**(2): 115-133.
Mertes, P. M. and M. C. Laxenaire (2001). "Allergic reactions occurring during anaesthesia." Eur J Anaesthesiol **in press**.
Mertes, P. M. and M. C. Laxenaire (2002). "Allergic reactions occurring during anaesthesia." Eur J Anaesthesiol **19**: 240-262.
Mertes, P. M. and M. C. Laxenaire (2004). "Adverse reactions to neuromuscular blocking agents." Curr Allergy Asthma Rep **4**(1): 7-16.
Mertes, P. M. and M. C. Laxenaire (2004). "Allergy and anaphylaxis in anaesthesia." Minerva Anestesiol **70**(5): 285-291.
Mertes, P. M. and M. C. Laxenaire (2004). "[Anaphylactic and anaphylactoid reactions occurring during anaesthesia in France. Seventh epidemiologic survey (January 2001-December 2002)]." Ann Fr Anesth Reanim **23**(12): 1133-1143.
Mertes, P. M., M. C. Laxenaire, et al. (2005). "Reducing the risk of anaphylaxis during anaesthesia: guidelines for clinical practice." J Investig Allergol Clin Immunol **15**(2): 91-101.
Mertes, P. M., J. M. Malinovsky, et al. (2011). "Reducing the risk of anaphylaxis during anesthesia: 2011 updated guidelines for clinical practice." J Investig Allergol Clin Immunol **21**(6): 442-453.
Mertes, P. M., J. M. Malinovsky, et al. (2008). "Anaphylaxis to dyes during the perioperative period: reports of 14 clinical cases." J Allergy Clin Immunol **122**(2): 348-352.
Mertes, P. M., K. Tajima, et al. (2010). "Perioperative anaphylaxis." Med Clin North Am **94**(4): 761-789, xi.
Miclescu, A., H. S. Sharma, et al. (2010). "Methylene blue protects the cortical blood-brain barrier against ischemia/reperfusion-induced disruptions." Crit Care Med **38**(11): 2199-2206.
Mink, S. N., A. Becker, et al. (1998). "Effects of anaphylaxis mediators on partitioned pulmonary vascular resistance during ragweed shock in dogs." J Appl Physiol **84**(3): 782-790.
Mitra, J. K., J. Roy, et al. (2011). "Vasopressin: Its current role in anesthetic practice." Indian J Crit Care Med **15**(2): 71-77.
Mitsuhata, H., N. Hasome, et al. (1995). "Evaluation of left ventricular diastolic function in IgE-mediated anaphylaxis in dogs." Acta Anaesthesiol Scand **39**(6): 791-796.
Mitsuhata, H., S. Matsumoto, et al. (1992). "The epidemiology and clinical features of anaphylactic and anaphylactoid reactions in the perioperative period in Japan." Masui **41**: 1664-1669.
Mitsuhata, H., J. Saitoh, et al. (1995). "Nitric oxide synthase inhibition is detrimental to cardiac function and promotes bronchospasm in anaphylaxis in rabbits." Shock **4**(2): 143-148.
Mitsuhata, H., H. Takeuchi, et al. (1995). "An inhibitor of nitric oxide synthase, N omega-nitro-L-arginine-methyl ester, attenuates hypotension but does not improve cardiac depression in anaphylaxis in dogs." Shock **3**(6): 447-453; discussion 454.
Miyahara, T., T. Shibamoto, et al. (1997). "Role of circulating blood components and thromboxane in anaphylactic vasoconstriction in isolated canine lungs." J Appl Physiol **83**(5): 1508-1516.

Moneret-Vautrin, D. A. and G. Kanny (2002). "Anaphylaxis to muscle relaxants: rational for skin tests." Allerg Immunol (Paris) **34**(7): 233-240.
Moneret-Vautrin, D. A. and M. C. Laxenaire (1993). "The risk of allergy related to general anaesthesia." Clin Exp Allergy **23**(8): 629-633.
Moneret-Vautrin, D. A., M. C. Laxenaire, et al. (1990). "Allergic shock to latex and ethylene oxide during surgery for spinal bifida." Anesthesiology **73**(3): 556-558.
Monneret, G., V. Dumenil, et al. (1999). "[Biological diagnosis of immediate drug allergy. Comparative study of histamine liberation tests and CD63 expression by flow cytometry (preliminary results)]." Allerg Immunol (Paris) **31**(9): 307-310.
Montrucchio, G., G. Alloatti, et al. (2000). "Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology." Physiol Rev **80**(4): 1669-1699.
Morgan, P. W. and J. C. Berridge (2000). "Giving long-persistent starch as volume replacement can cause pruritus after cardiac surgery." Br J Anaesth **85**(5): 696-699.
Nakayama, S., L. Sibley, et al. (1984). "Small-volume resuscitation with hypertonic saline (2,400 mOsm/liter) during hemorrhagic shock." Circ Shock **13**(2): 149-159.
Nicolas, F., D. Villers, et al. (1984). "Hemodynamic pattern in anaphylactic shock with cardiac arrest." Crit Care Med **12**(2): 144-145.
Niinikoski, J. and L. Halkola (1977). "Skeletal muscle PO2: indicator of peripheral tissue perfusion in haemorrhagic shock." Adv Exp Med Biol **94**: 585-592.
Nubret, K., M. Delhoume, et al. (2011). "Anaphylactic shock to fresh-frozen plasma inactivated with methylene blue." Transfusion **51**(1): 125-128.
Odden, J. P., T. Farstad, et al. (1994). "Cerebral blood flow autoregulation after moderate hypoxemia in the newborn piglet." Biol Neonate **65**(6): 367-377.
Okanlami, O. A., A. D. Fryer, et al. (1996). "Interaction of nondepolarizing muscle relaxants with M2 and M3 muscarinic receptors in guinea pig lung and heart." Anesthesiology **84**(1): 155-161.
Osada, S., H. Ichiki, et al. (1994). "Participation of nitric oxide in mouse anaphylactic hypotension." Eur J Pharmacol **252**(3): 347-350.
Overgaard, C. B. and V. Dzavik (2008). "Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease." Circulation **118**(10): 1047-1056.
Oyama, H., Y. Suzuki, et al. (1993). "Role of nitric oxide in the cerebral vasodilatory responses to vasopressin and oxytocin in dogs." J Cereb Blood Flow Metab **13**(2): 285-290.
Paton, W. D. (1957). "Histamine release by compounds of simple chemical structure." Pharmacol Rev **9**(2): 269-328.
Payne, V. and P. C. Kam (2004). "Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance." Anaesthesia **59**(7): 695-703.
Powers, W. J. (1991). "Cerebral hemodynamics in ischemic cerebrovascular disease." Ann Neurol **29**(3): 231-240.
Pumphrey, R. S. (2000). "Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions." Clin Exp Allergy **30**(8): 1144-1150.
Raper, R. F. and M. M. Fisher (1988). "Profound reversible myocardial depression after anaphylaxis." Lancet **1**(8582): 386-388.
Reed, C. E. and H. Kita (2004). "The role of protease activation of inflammation in allergic respiratory diseases." J Allergy Clin Immunol **114**(5): 997-1008; quiz 1009.
Ring, J. and K. Messmer (1977). "Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes." Lancet **1**(8009): 466-469.
Ristagno, G., S. Sun, et al. (2007). "Effects of epinephrine and vasopressin on cerebral microcirculatory flows during and after cardiopulmonary resuscitation." Crit Care Med **35**(9): 2145-2149.
Rocq, N., J. C. Favier, et al. (2007). "Successful use of terlipressin in post-cardiac arrest resuscitation after an epinephrine-resistant anaphylactic shock to suxamethonium." Anesthesiology **107**(1): 166-167.

Rodrigues, J. M., A. Pazin Filho, et al. (2007). "Methylene blue for clinical anaphylaxis treatment: a case report." Sao Paulo Med J **125**(1): 60-62.
Rose, M. and M. Fisher (2001). "Rocuronium: high risk for anaphylaxis?" Br J Anaesth **86**(5): 678-682.
Rossoni, G., B. Manfredi, et al. (2007). "Positive interaction of the novel beta2-agonist carmoterol and tiotropium bromide in the control of airway changes induced by different challenges in guinea-pigs." Pulm Pharmacol Ther **20**(3): 250-257.
Sachs, R. M. and E. A. Bortnichak (1986). "An evaluation of spontaneous adverse drug reaction monitoring systems." Am J Med **81**(5B): 49-55.
Sainte-Laudy, J. and F. Touraine (2009). "Use of basophil sensitivity not reactivity as a good marker for allergy diagnosis." Inflamm Res **58 Suppl 1**: 28-29.
Sampson, H. A., L. Mendelson, et al. (1992). "Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents." N Engl J Med **327**(6): 380-384.
Sampson, H. A., A. Munoz-Furlong, et al. (2006). "Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report--Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium." J Allergy Clin Immunol **117**(2): 391-397.
Sanchez-Borges, M., A. Capriles-Hulett, et al. (2004). "The multiple faces of nonsteroidal antiinflammatory drug hypersensitivity." J Investig Allergol Clin Immunol **14**(4): 329-334.
Sanz, M. L., P. M. Gamboa, et al. (2009). "Basophil activation tests in the evaluation of immediate drug hypersensitivity." Curr Opin Allergy Clin Immunol **9**(4): 298-304.
Scherer, K., W. Studer, et al. (2006). "Anaphylaxis to isosulfan blue and cross-reactivity to patent blue V: case report and review of the nomenclature of vital blue dyes." Ann Allergy Asthma Immunol **96**(3): 497-500.
Schneider, E., M. Rolli-Derkinderen, et al. (2002). "Trends in histamine research: new functions during immune responses and hematopoiesis." Trends Immunol **23**(5): 255-263.
Schummer, C., M. Wirsing, et al. (2008). "The pivotal role of vasopressin in refractory anaphylactic shock." Anesth Analg **107**(2): 620-624.
Schummer, W. and C. Schummer (2009). "Vasopression and suspected anaphylactic reactions associated with anaesthesia." Anaesthesia **64**(7): 783; author reply 783.
Schummer, W., C. Schummer, et al. (2004). "Anaphylactic shock: is vasopressin the drug of choice?" Anesthesiology **101**(4): 1025-1027.
Schwartz, L. B., M. S. Kawahara, et al. (1983). "Generation of C3a anaphylatoxin from human C3 by human mast cell tryptase." J Immunol **130**(4): 1891-1895.
Schwartz, L. B., D. D. Metcalfe, et al. (1987). "Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis." N Engl J Med **316**(26): 1622-1626.
Scott, R. P., J. J. Savarese, et al. (1985). "Atracurium: clinical strategies for preventing histamine release and attenuating the haemodynamic response." Br J Anaesth **57**(6): 550-553.
sfar (2001). "Prévention du risque allergique peranesthésique. Recommandations pour la pratique clinique.Texte court." Ann Fr Anesth Réanim **20**: fi 56-69.
Sfar (2011). "[Reducing the risk of anaphylaxis during anaesthesia. Short text. Societe francaise d'anesthesie et reanimation. Societe francaise d'allergologie]." Ann Fr Anesth Reanim **30**(3): 212-222.
Shahid, M., T. Tripathi, et al. (2009). "Histamine, Histamine Receptors, and their Role in Immunomodulation: An Updated Systematic Review." The Open Immunology Journal **2**: 9-41.
Sharland, C., A. Huggett, et al. (1999). "Persistent pruritus after pentastarch infusions in intensive care patients." Anaesthesia **54**(5): 500-501.
Shatney, C. H. and I. H. Chaudry (1984). "Hydroxyethylstarch administration does not depress reticuloendothelial function or increase mortality from sepsis." Circ Shock **13**(1): 21-26.
Sheikh, A., Y. A. Shehata, et al. (2008). "Adrenaline (epinephrine) for the treatment of anaphylaxis with and without shock." Cochrane Database Syst Rev(4): CD006312.
Shibamoto, T., S. Cui, et al. (2005). "Hepatic venoconstriction is involved in anaphylactic hypotension in rats." Am J Physiol Heart Circ Physiol **289**(4): H1436-1441.

Shibamoto, T., S. Cui, et al. (2005). "Hepatic venoconstriction is involved in anaphylactic hypotension in rats." American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology **289**(4): H1436-1441.
Silverman, H. J., C. Van Hook, et al. (1984). "Hemodynamic changes in human anaphylaxis." Am J Med **77**(2): 341-344.
Simons, F. E. (2010). "World Allergy Organization survey on global availability of essentials for the assessment and management of anaphylaxis by allergy-immunology specialists in health care settings." Ann Allergy Asthma Immunol **104**(5): 405-412.
Stafforini, D. M., T. M. McIntyre, et al. (2003). "Platelet-activating factor, a pleiotrophic mediator of physiological and pathological processes." Crit Rev Clin Lab Sci **40**(6): 643-672.
Stawicki, S. P., C. Sims, et al. (2008). "Methylene blue and vasoplegia: who, when, and how?" Mini Rev Med Chem **8**(5): 472-490.
Stellato, C., A. de Paulis, et al. (1991). "Heterogeneity of human mast cells and basophils in response to muscle relaxants." Anesthesiology **74**(6): 1078-1086.
Sudheer, P. S., J. E. Hall, et al. (2005). "Flow cytometric investigation of peri-anaesthetic anaphylaxis using CD63 and CD203c." Anaesthesia **60**(3): 251-256.
Szabo, C. and C. Thiemermann (1994). "Invited opinion: role of nitric oxide in hemorrhagic, traumatic, and anaphylactic shock and thermal injury." Shock **2**(2): 145-155.
Takano, H., W. Liu, et al. (2007). "N(G)-nitro-L-arginine methyl ester, but not methylene blue, attenuates anaphylactic hypotension in anesthetized mice." J Pharmacol Sci **104**(3): 212-217.
Takayasu, M., Y. Kajita, et al. (1993). "Triphasic response of rat intracerebral arterioles to increasing concentrations of vasopressin in vitro." J Cereb Blood Flow Metab **13**(2): 304-309.
Thomas, M. and I. Crawford (2005). "Best evidence topic report. Glucagon infusion in refractory anaphylactic shock in patients on beta-blockers." Emerg Med J **22**(4): 272-273.
Tigani, B., J. P. Hannon, et al. (2001). "Effects of wortmannin on airways inflammation induced by allergen in actively sensitised Brown Norway rats." Eur J Pharmacol **433**(2-3): 217-223.
Tigani, B., J. P. Hannon, et al. (2003). "Effects of immunomodulators on airways hyperresponsiveness to adenosine induced in actively sensitised Brown Norway rats by exposure to allergen." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **368**(1): 17-25.
Tripathi, T., A. A. Khan, et al. (2013). "Biochemical and histopathological evaluation of histamine receptors (H1R, H2R, H3R and H4R)-agonist in rabbits." Exp Toxicol Pathol **65**(3): 271-275.
Tripathi, T., M. Shahid, et al. (2012). "In vivo study of histamine H4 receptor in immunomodulation." Bratisl Lek Listy **113**(11): 641-647.
Tsong, Y. (1995). "Comparing reporting rates of adverse events between drugs with adjustment for year of marketing and secular trends in total reporting." J Biopharm Stat **5**(1): 95-114.
Tsujimura, Y., K. Obata, et al. (2008). "Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-g-mediated but not immunoglobulin-e-mediated systemic anaphylaxis." Immunity **28**(4): 581-589.
Vadas, P., M. Gold, et al. (2008). "Platelet-activating factor, PAF acetylhydrolase, and severe anaphylaxis." N Engl J Med **358**(1): 28-35.
Velasco, I. T., V. Pontieri, et al. (1980). "Hyperosmotic NaCl and severe hemorrhagic shock." Am J Physiol **239**(5): H664-673.
Vincent, J. L. (2007). "Fluid resuscitation: colloids vs crystalloids." Acta Clin Belg Suppl(2): 408-411.
Wagdi, P., V. K. Mehan, et al. (1994). "Acute myocardial infarction after wasp stings in a patient with normal coronary arteries." American Heart Journal **128**(4): 820-823.
Wan, Z., G. Ristagno, et al. (2009). "Preserved cerebral microcirculation during cardiogenic shock." Crit Care Med **37**(8): 2333-2337.
Wan, Z., S. Sun, et al. (2010). "The cerebral microcirculation is protected during experimental hemorrhagic shock." Crit Care Med **38**(3): 928-932.
Watkins, J. (1985). "Adverse anaesthetic reactions. An update from a proposed national reporting and advisory service." Anaesthesia **40**(8): 797-800.
Watkins, J. (2001). "Incidence of UK reactions involving rocuronium may simply reflect market use." Br J Anaesth **87**(3): 522.

Watkins, J. and G. Wild (1993). "Improved diagnosis of anaphylactoid reactions by measurement of serum tryptase and urinary methylhistamine." Ann Fr Anesth Reanim **12**: 169-172.
Watson, N. A., S. C. Beards, et al. (2000). "The effect of hyperoxia on cerebral blood flow: a study in healthy volunteers using magnetic resonance phase-contrast angiography." Eur J Anaesthesiol **17**(3): 152-159.
Weissgerber, A. J. (2008). "Methylene blue for refractory hypotension: a case report." AANA J **76**(4): 271-274.
Westphal, M., M. F. James, et al. (2009). "Hydroxyethyl starches: different products--different effects." Anesthesiology **111**(1): 187-202.
Whittington, T. and M. M. Fisher (1998). "Anaphylactic and anaphylactoid reactions. Clinical Anaesthesiology." B Clin Anaesthesiol **12**: 301-323.
Winbery, S. L. and P. L. Lieberman (2002). "Histamine and antihistamines in anaphylaxis." Clin Allergy Immunol **17**: 287-317.
Wollin, L., D. S. Bundschuh, et al. (2006). "Inhibition of airway hyperresponsiveness and pulmonary inflammation by roflumilast and other PDE4 inhibitors." Pulm Pharmacol Ther **19**(5): 343-352.
Youngman, P. R., K. M. Taylor, et al. (1983). "Anaphylactoid reactions to neuromuscular blocking agents: a commonly undiagnosed condition?" Lancet **2**(8350): 597-599.
Zanini, G. M., P. Cabrales, et al. (2011). "Exogenous nitric oxide decreases brain vascular inflammation, leakage and venular resistance during Plasmodium berghei ANKA infection in mice." J Neuroinflammation **8**: 66.
Zhang, W., T. Shibamoto, et al. (2009). "7-nitroindazole, but not L-NAME or aminoguanidine, attenuates anaphylactic hypotension in conscious rats." Shock **31**(2): 201-206.
Zhang, W., T. Shibamoto, et al. (2011). "Pulmonary vasoconstrictive and bronchoconstrictive responses to anaphylaxis are weakened via beta2-adrenoceptor activation by endogenous epinephrine in anesthetized rats." Anesthesiology **114**(3): 614-623.
Zhao, K. S., D. Junker, et al. (1985). "Microvascular adjustments during irreversible hemorrhagic shock in rat skeletal muscle." Microvasc Res **30**(2): 143-153.

Résumé

Le but de notre travail était d'étudier des nouveaux aspects de la physiopathologie et de la thérapeutique du choc anaphylactique chez le rat Brown Norway.

La première partie de notre thèse étudie la physiopathologie systémique et régionale du choc anaphylactique. Le choc anaphylactique s'accompagne d'une diminution rapide du débit cardiaque, d'une altération brutale de l'autorégulation du débit sanguin cérébral et d'une atteinte respiratoire associant un œdème des voies respiratoires et un bronchospasme.

La deuxième partie de notre travail s'intéresse à la prise en charge thérapeutique du choc anaphylactique. L'adrénaline s'avère supérieure à la vasopressine, pour inhiber le bronchospasme et diminuer la perméabilité microvasculaire, permettant une meilleure préservation de l'oxygénation cérébrale, en particulier dans la région de l'hippocampe, mais aussi une correction du bronchospsme et une diminution de l'hyperperméabilté bronchique à la phase précoce du choc anaphylactique. Nous avons également comparé les effets de trois types de solutés de remplissage administrés en association avec l'adrénaline au cours du choc anaphylactique, démontrant la supériorité de l'administration de soluté macromoléculaires tels que l'HES et l'échec des solutés salés hypertoniques. Enfin nous avons pu mettre en évidence l'intérêt de l'administration de bleu de méthylène (3mg/kg) en démontrant l'existence d'un effet synergique avec l'adrénaline au cours du choc anaphylactique.

Mots clés : choc anaphylactique ; adrénaline ; vasopressine arginine ; bleu de méthylène ; hydroxyéthylamidon

Summary

The aim of our work was to study new aspects of the pathophysiology and treatment of anaphylactic shock in the Brown Norway rat.

The first part of this thesis focuses on the systemic and regional pathophysiology of anaphylactic shock which is accompanied by a rapid decrease in cardiac output, a sudden alteration of autoregulation of cerebral blood flow and a respiratory dysfunction involving swelling of the airways and bronchospasm.

The second part of our work focuses on the therapeutic management of anaphylactic shock. Epinephrine was found to be superior to vasopressin, to inhibit bronchospasm and decrease microvascular permeability, allowing a better preservation of the cerebral oxygenation, in particular in the region of the hippocampus. Furthermore, it provided also an alleviation of bronchospasm and of bronchial hyperperméabilté in the early phase of anaphylactic shock. We also compared the effects of three types of fluid therapy administered in combination with adrenaline during anaphylactic shock, demonstrating the superiority of the administration of a macromolecular solution such as HES compared to hypertonic saline fluids. Finally we were able to highlight the usefulness of the administration of methylene blue (3mg/kg) demonstrating the existence of a synergistic effect with adrenaline during anaphylactic shock.

KEY WORDS: anaphylactic shock, epinephrine, arginine vasopressin, methylene blue, hydorxyethy starch